Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. H. E. Bock

Enzymaktivitäten und Metabolitengehalte in der Nierenrinde und im Blut des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hubertus Gerhard Knüfermann
aus Merseburg/Saale

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0014

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Dr. h. c. H. E. Bock

Enzymaktivitäten und Metabolitengehalte in der Nierenrinde und im Blut des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hubertus Gerhard Knüfermann
aus Merseburg/Saale

1970

Dekan: Professor Dr. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Professor Dr. J. Gayer
(Professor Dr. Dr. h. c. H.-E. Bock)

2. Berichterstatter: Professor Dr. A. Bohle

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Meinen Eltern

in Dankbarkeit und Neigung

zugeeignet

DANKSAGUNG

Die experimentellen Arbeiten zu der vorliegenden Dissertation wurden von Mai 1964 bis Dezember 1967 an der medizinischen Universitätsklinik Tübingen durchgeführt. Dem Direktor dieser Klinik, Herrn Professor Dr. med. Hans-Erhard Bock, danke ich sehr für die Überlassung der Arbeit und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, sowie die Möglichkeit zur Benutzung aller wissenschaftlichen Einrichtungen der Klinik.

Meinem verehrtem Doktor-Vater und Lehrer, Herrn Professor Dr. med. Jürgen Gayer sei für die Anleitung zur wissenschaftlichen Arbeitweise, für seinen steten Rat und Zuspruch auf das herzlichste gedankt.

Die Beratung zur statistischen Auswertung und die Durchführung derselben erfolgte am Institut für medizinische Biometrie und am Zentrum für Datenverarbeitung. Den Direktoren dieser Institute, Frau Professor Dr. phil. Maria-Pia Geppert und Herrn Professor Dr. rer. nat. Erich Schmid, ebenso wie deren Mitarbeitern Herrn Dr. Robert Rietsch und Herrn Gerhard Schubring danke ich für ihre Hilfe, sowie der liebenswürdigen Zurverfügungstellung der Einrichtungen ihrer Institute.

Bei einem Teil der technischen Durchführung der Untersuchungen wurde ich von den medizinisch-technischen Assistentinnen Fräulein Claussen und Fräulein Büchner unterstützt. Für ihre Einsatzbereitschaft und gewissenhafte Arbeit möchte ich beiden danken.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

0. Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen 1

0.0. Enzyme 1
0.1. Substrate 2
0.2. Sonstiges 3
0.3. Firmennamen 5
0.4. Histologie 5

1. Einleitung 7

1.0. Zielsetzung 7
1.1. Literaturübersicht 11

2. Methoden 21

2.0. Material 21
2.1. Erzeugung der Glomerulonephritis 23
2.1.0. Herstellung des Enten-Antikaninchennierenserums .. 23
2.1.1. Behandlung der Kaninchen 25
2.2. Histochemische und histologische Methoden 26
2.2.0. Präparation und Auswertung 26
2.2.1. Alkalische Phosphatase 27
(0.) Diazo-Kupplungsmethode 27
(1.) Kobaltsulfid-Fällung nach GOMORI 30
2.2.2. Saure Phosphatase 32
(0.) Diazo-Kupplungsmethode 32
(1.) Bleisulfid-Fällung nach GOMORI 35
2.2.3. Saure Thiaminpyrophosphatase 36
2.2.4. Bernsteinsäuredehydrogenase 38
2.2.5. Proteingebundene Sulfhydrylgruppen 40
2.2.6. Histologische Färbung 43

Seite

2.3. Biochemische Bestimmungsmethoden 44
2.3.0. Substratbestimmungen 44
(0.) Aufarbeitung zu Substratbestimmungen 44
(1.) Durchführung und Auswertung der Substratbestimmungen 45
(2.) Adenosintriphosphat 46
(3.) Pyruvat - Adenosindiphosphat - Adenosinmonophosphat 47
(4.) Glukose 48
(5.) Glyzerin-1-phosphat-L(+)-Laktat 49
(6.) Glukose-6-phosphat 50
(7.) Dihydroxyazetonphosphat-Fruktose-1.6.-diphosphat 51
2.3.1. Enzymbestimmungen 52
(0.) Aufarbeitung zur Enzymbestimmung 52
(1.) Durchführung und Auswertung der Enzymbestimmungen 53
(2.) Enzyme des glykolytischen Abbauweges 55
(2.0.) Phosphoglukomutase 55
(2.1.) Hexokinase 57
(2.2.) Phosphoglukoseisomerase 58
(2.3.) Fruktosephosphatkinase 59
(2.4.) Diphosphofruktose-Aldolase 60
(2.5.) Glyzerinaldehydphosphatdehydrogenase. 61
(2.6.) Phosphoglyzeratkinase 62
(2.7.). Phosphoglyzeratmutase 63
(2.8.) Enolase 65
(2.9.) Pyruvatkinase 66
(2.10.) Laktatdehydrogenase 67
(3.) Enzyme des Pentosephosphatweges 68
(3.0.) Glukose-6-phosphatdehydrogenase 68
(3.1.) 6-Phosphoglukonatdehydrogenase 69

Seite

(4.) Enzyme des Phosphatstoffwechsels 70
(4.0.) Myokinase 70
(4.1.) Magnesium-abhängige Adenosin-triphosphatase 72
(4.2.) Alkalische Phosphatase 73
(4.3.) Saure Phosphatase 75
2.3.2. Nukleinsäurebestimmungen 76
2.3.3. Bestimmung harnpflichtiger Substanzen 78
(0.) Harnstoff 78
(1.) Kreatinin 78
(2.) Anorganisches Phosphat 78
2.4. Urinuntersuchungen 79
2.5. Sonstige Bestimmungen 80
2.5.0. Blutbild 80
2.5.1. Proteinbestimmung 81
2.6. Durchführung des Tierexperimentes 82
2.7. Statistische Auswertung der Ergebnisse 83

3. Ergebnisse 86

3.0. Ergebnisse der histochemischen und histologischen Untersuchungen 86
3.0.0. Alkalische Phosphatase 86
3.0.1. Saure Phosphatase 90
3.0.2. Saure Thiaminpyrophosphatase 93
3.0.3. Bernsteinsäuredehydrogenase 95
3.0.4. Proteingebundene Sulfhydrylgruppen 97
3.0.5. Histologischer Verlauf 98
3.1. Ergebnisse der biochemischen Bestimmungen 100
3.1.0. Ergebnisse der Substratbestimmungen 100
(0.) Adenosintriphosphat 100
(1.) Adenosindiphosphat 101
(2.) Adenosinmonophosphat 101

Seite

(3.) Summe der Adenosinnukleotide 102
(4.) ATP/ADP-Quotient 102
(5.) Glukose 103
(6.) Glukose-6-phosphat 104
(7.) Fruktose-1.6.-diphosphat 104
(8.) Dihydroxyazetonphosphat 105
(9.) Glyzerin-1-phosphat 106
(10.) Glyzerin-1-phosphat/Dihydroxyazeton-
phosphat - Quotient 106
(11.) Summe aus Glyzerin-1-phosphat und Di-
hydroxyazetonphosphat 107
(12.) Pyruvat 107
(13.) Laktat 108
(14.) Laktat/Pyruvat - Quotient 108
(15.) Summe aus Laktat und Pyruvat 109
3.1.1. Ergebnisse der Enzymbestimmungen 110
(0.) Enzyme des glykolytischen Abbauweges 110
(0.0.) Phosphoglukomutase 110
(0.1.) Hexokinase 110
(0.2.) Phosphoglukoisomerase 112
(0.3.) Fruktosephosphatkinase 112
(0.4.) Diphosphofruktose-Aldolase 113
(0.5.) Glyzerinaldehydphosphatdehydrogenase. 114
(0.6.) Phosphoglyzeratkinase 114
(0.7.) Phosphoglyzeratmutase 115
(0.8.) Enolase 115
(0.9.) Pyruvatkinase 116
(0.10.) Laktatdehydrogenase 116
(1.) Enzyme des Pentosephosphatweges 117
(1.0.) Glukose-6-phosphatdehydrogenase 117
(1.1.) 6-Phosphoglukonatdehydrogenase 118
(2.) Enzyme des Phosphatstoffwechsels 118

Seite

(2.0.) Myokinase 118
(2.1.) Magnesium-abhängige Adenosin-triphosphatase 119
(2.2.) Alkalische Phosphatase 120
(2.3.) Saure Phosphatase 120
3.1.2. Ergebnisse der Nukleinsäurebestimmungen 121
(0.) Desoxyribonukleinsäure 121
(1.) Ribonukleinsäure 122
3.1.3. Ergebnisse der Bestimmung harnpflichtiger Substanzen im Blutserum 122
3.2. Ergebnisse der Urinuntersuchung 124
3.3. Blutbildveränderungen 125
3.3.0. Erythrozyten / Retikulozyten / Hämoglobingehalt .. 125
3.3.1. Leukozytenzahl / absolute Eosinophilenzahl 126
3.3.2. Differentialblutbilder 126
3.4. Ergebnisse der Proteinbestimmung 129

4. Diskussion der Ergebnisse 130

4.0. Aufgabe 130
4.1. Morphologische und biochemische Organisation des Nephrons 131
4.1.0. Zelluläres Strukturschema 131
(0.) Zellräume 131
(1.) Grenzflächen 132
(2.) Spezifische Strukturen 133
4.1.1. Lokalisation der Enzyme und Substrate 134
(0.) Enzyme des C-Raumes 135
(1.) Enzyme des M-Raumes 136
(2.) Enzyme des K-Raumes 138
(3.) Membrangebundene Enzyme 138
(4.) Verteilung der Enzyme im Verlauf des Nephrons 139

Seite

(5.) Verteilung der Metabolite 141
4.2. Kritik der Methode 146
4.2.0. Aufarbeitungsmethoden 146
4.2.1. Enzymlokalisation 148
4.2.2. Zusammensetzung des Nierenrindenhomogenates 149
4.3. Ergebnisse 151
4.3.0. Histologischer und histochemischer Verlauf 151
4.3.1. Klinischer Verlauf 152
(0.) Urinbefunde 152
(1.) Blutserum: harnpflichtige Substanzen 152
(2.) Blutbildveränderungen 154
(2.0.) Veränderungen des roten Blutbildes ... 154
(2.1.) Veränderungen des weißen Blutbildes .. 158
4.3.2. Biochemischer Verlauf 158
(0.) Biochemische Normalbefunde 158
(0.0.) Enzyme 158
(0.1.) Metabolitengehalte der Kaninchennierenrinde und des Vollblutes 164
(1.) Biochemische Befunde im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis 167
(1.0.) Glykolytischer Abbauweg - Pentosephosphat-Weg 167
(1.0.0.) Nierenrinde 167
(1.0.1.) Vollblut 180
(1.1.) Phosphatstoffwechsel 183
(1.1.0.) Enzyme des Stoffwechsels der energiereichen Phosphate ... 186
(1.1.1.) Unspezifische Phosphohydrolasen 190

5. Schlußbetrachtung 191

6. Zusammenfassung 194

7. Literaturverzeichnis 197-254

0. VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN

0.0. ENZYME

ALD	Fruktose-6-phosphat-Aldolase (E.C. 4.1.2.7.)
AOX	D-Alaninoxidase
AP	Alkalische Phosphatase (E.C. 3.1.3.1.)
ATPase	Adenosintriphosphatase (E.C. 3.6.1.3. - 5.)
CAD	Carbonsäureanhydratase (E.C. 4.2.1.1.)
CS	Citratsynthase (E.C. 4.1.3.7.)
CYOX	Cytochrom-c-oxidase (E.C. 1.9.3.1.)
CYRE	Cytochrom-c-reduktase (E.C. 1.6.2.1.)
ENO	Enolase (E.C. 4.2.1.11.)
FPK	Fruktosephosphatkinase (E.C. 2.7.1.11.)
F-1-P-ALD	Fruktose-1-phosphat-Aldolase
GAPDH	Glyzerinaldehydphosphatdehydrogenase (E.C. 1.2.1.9.)
GDH	Glyzerin-1-phosphatdehydrogenase (E.C. 1.1.1.8.)
GL	Glutaminase (E.C. 3.5.1.2.)
GLAP	Glycyl-phenylalanin-dipeptidase (E.C. 3.4.3.1.)
GMDH	Glutamatdehydrogenase (E.C. 3.5.1.2.)
G-6-Pase	Glukose-6-phosphatase (E.C. 3.1.3.9.)
G-6-PDH	Glukose-6-phosphatdehydrogenase (E.C. 1.1.1.49.)
GOT	Glutamat-oxalat-transaminase (E.C. 2.6.1.1.)
GPT	Glutamat-pyruvat-transaminase (E.C. 2.6.1.2.)
HK	Hexokinase (E.C. 2.7.1.1.)
ICDH	Isozitratdehydrogenase, NAD-abhängig (E.C. 1.1.1.41.)

LAP	Leuzinaminopeptidase (E.C. 3.4.1.1.)
LDH	Laktatdehydrogenase (E.C. 1.1.1.27.)
MDH	Malatdehydrogenase (E.C. 1.1.1.37.)
MK	Myokinase (E.C. 2.7.4.3.)
6-PGH	6-Phosphoglukonatdehydrogenase (E.C. 1.1.1.44.)
PGI	Phosphoglukoseisomerase (E.C. 5.3.1.9.)
PGK	1-Phosphoglyzeratkinase (E.C. 2.7.2.3.)
PGluM	Phosphoglukomutase (E.C. 2.7.5.1.)
PGM	Phosphoglyzeratmutase (E.C. 2.7.5.1.)
PK	Pyruvatkinase (E.C. 2.7.1.40.)
SDH	Succinatdehydrogenase (E.C. 1.3.99.1.)
SP	Saure Phosphatase (E.C. 3.1.3.2.)
STP	Saure Thiaminpyrophosphatase
TIM	Triosephosphatisomerase (E.C. 5.3.1.1.)

0.1. SUBSTRATE

(einschließlich Puffer u.a. Hilfsstoffe; mit Herkunftsangabe)

ADP	Adenosindiphosphat	(B)
AEDT	Äthylendiamintetraessigsäure	(B)
AMP	Adenosinmonophosphat	(B)
ATP	Adenosintriphosphat	(B)
DAP	Dihydroxyazetonphosphat	
DNS	Desoxyribonukleinsäure	(S)
GAP	Glyzerinaldehydphosphat	
GLU	Glukose	(M)
G-6-P	Glukose-6-phosphat	(B)
GSH	Glutathion, reduziert	(B)
LAK	Laktat	(B)

MTT	[3.-(4.5.-Dimethyl-thiazolyl-2.)-2.5.-diphenyl] tetrazoliumbromid	(S)
NAD	Diphosphopyridinnukleotid, oxidiert [DPN]	(B)
$NADH_2$	Diphosphopyridinnukleotid, reduziert [DPNH]	(B)
NADP	Triphosphopyridinnukleotid, oxidiert [TPN]	(B)
$NADPH_2$	Triphosphopyridinnukleotid, reduziert [TPNH]	(B)
Na-NPP	Natrium-p-nitrophenylphosphat	
NP	p-Nitrophenol	
P_o	Orthophosphat	
PEP	Phosphoenolpyruvat	(B)
1.-PG	Glyzerin-1-phosphat	
2.-PG	2-Phosphoglyzerat	(B)
3.-PG	3-Phosphoglyzerat	(B)
6.-PG	6-Phosphoglukonat	
1.3.-PGP	1.3.-Diphosphoglyzerat	
PY	Pyruvat	(B)
RL-5.-P	Ribulose-5-phosphat	
RNS	Rubonukleinsäure	(S)
TRAP	Triäthanolamin-Puffer	(B)
TRIS	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	(B)

0.2. SONSTIGE ABKÜRZUNGEN

Be-Lo-E.	Bessey-Lowry-Einheiten [mMol-Einheiten]
d	Schichtdicke
ΔE	Extinktionsdifferenz
$\Delta E/Min.$	Extinktionsdifferenz pro Minute
$\Delta E'_1/Min.$	Extinktionsdifferenz pro Minute des Hauptlaufes (1. Probe)
$\Delta E'_2/Min.$	Extinktionsdifferenz pro Minute des Hauptlaufes (2. Probe)

ΔE_v/Min.	Extinktionsdifferenz pro Minute des Vorlaufes
ϵ	Extinktionskoeffizient [cm^2/Mol]
ϵ'	Extinktionskoeffizient · 10^{-6} [cm^2/μMol]
ϵ^x	Extinktionskoeffizient · 10^{-3} [cm^2/mMol]
Fg	Frischgewicht
i.E.	Internationale Einheiten
K_1	Testspezifische Konstante
K_2	Probenspezifische Konstante
λ	Wellenlänge in nm
M	Molarität
mM	milli Mol (10^{-3}Mol)
Min.	Minute
μ	10^{-3} cm = 10^{-5} m
μMol	10^{-6}Mol
N	Normalität
nm	10^{-6} cm = 10^{-8} m
Pg	Proteingehalt
[S.]	Startsubstanz bei den optischen Tests
s	Standardabweichung · s^2 Varianz
$s_{\bar{x}}$	Streuung des Mittelwertes
Sek.	Sekunde
U/Min.	Umdrehungen pro Minute
V_A	Volumen der eingesetzten Extraktmenge
V_E	Volumen des Gewebsextraktes
V_p	Volumen des Testansatzes
$V_p(B)$	Volumen des Testansatzes mit Vollblutextrakt
$V_p(N)$	Volumen des Testansatzes mit Nierenrindenextrakt
$\bar{x}$	Mittelwert

0.3. FIRMENNAMEN

(A/M)	Ames-Merck, Darmstadt
(B)	Boehringer, Mannheim
(CH)	Chroma, Stuttgart
(F)	Fluka, Bern, (Schweiz)
(M)	Merck, Darmstadt
(S)	Serva, Heidelberg

0.4. HISTOLOGIE

A	Außenstreifen
B	Blutgefäß
Bg	Bindegewebe
E	Endothel
G	Glomerulum
Gc	Capsula glomeruli (BOWMAN)
H	Hauptstück
Hb	Bürstensaum des Hauptstückes
Hc	Cytoplasma des Hauptstückes
He	HENLE'sche Schleife
Hg	Basaler Teil des Hauptstückes
Hr	Hauptstück, pars recta
K	Kern
M	Mittelstück
Mch	Mitochondrien
Md	Macula densa
Mi	Menbrana elastica interna

Mg	Basaler Teil des Mittelstückes
Mr	Mittelstück, pars recta
S	Sammelrohr
T	Tunica media et externa
U	Überleitungsstück
Tu	Tubulärer Anteil

1. EINLEITUNG

1.0. ZIELSETZUNG

Die vorliegende Untersuchung hat zum Ziele, quantitative und qualitative Änderungen im Geschehen des Intermediärstoffwechsels der Nierenrinde des Kaninchens im Verlaufe der experimentellen Glomerulonephritis zu erfassen. Aus der Fülle der im Nierenrindengewebe nachgewiesenen Wege des Zwischenstoffwechsels wurden die folgenden Teilabschnitte ausgewählt:

1. der glykolytische Abbauweg
2. der Pentosephosphatweg
3. der Stoffwechsel der energiereichen Phosphate und des anorganischen Phosphates.

Dieses Ziel soll erreicht werden einerseits durch die Bestimmung der Enzymaktivitäten[1)] und Aufstellung von Enzymaktivitätsmustern für die Nierenrinde des gesunden Tieres und in verschiedenen Stadien des pathologischen Geschehens. Dabei soll geprüft werden, ob bei Änderung der Enzymaktivitäten in der Nierenrinde im Ablauf der experimentellen Glomerulonephritis die Proportionskonstanz der einzelnen Enzymgruppen erhalten bleibt (BÜCHER, Th. [50]; DELBRÜCK, A. et al. [80]; DELBRÜCK, A. et al. [81]; BÜCHER, Th. et al. [55]).

Andererseits werden die Zwischenstoffkonzentrationen von einigen Substraten der aufgeführten Wege des Zwischenstoffwechsels quantitativ bestimmt.

---

1) Enzymaktivitätseinheiten: 10^{-6} Mol Substratumsatz/Min./g Frischgewicht bei 25°C = I.E.; BESSEY-LOWRY-Einheiten (für alkalische und saure Phosphatase) bei 37°C.

Angegeben werden diese als der von BÜCHER, Th. et al. [53] definierte Metabolitengehalt[1].

Die gegenseitige Zuordnung von Enzymaktivitäten und Metabolitengehalte ermöglicht die Beurteilung des Funktionszustandes der untersuchten biochemischen Stoffwechselvorgänge.

Sowohl die Enzymaktivitäten, als auch die Metabolitengehalte wurden am Gesamthomogenat der Nierenrinde und am Vollblutextrakt bestimmt.

Zur Kon trolle des Krankheitsverlaufes wurden folgende Untersuchungen vorgenommen:

1. histologische und histochemische Aufarbeitungen
2. Blutserumanalyse von harnpflichtigen Substanzen
3. Blutbild-Untersuchungen
4. Urin-Untersuchungen

Die im einzelnen vorgenommenen Untersuchungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Um Änderungen in ihrem Verlauf festzustellen, wurden die Tiere an folgenden Tagen nach der krankheitsauslösenden Injektion untersucht (Tierzahl: je 5 Tiere pro Stadium):

1 - 2 - 4 - 6 - 10 - 14 - 18 - 24 - 30 Tage.

Die Enzym- und Substratbestimmungen wurden am 6., 10. und 14. Tag, dem vorher histologisch und histochemisch gesicherten Höhepunkt der Erkrankung, vorgenommen.

---

1) Unter dem Metabolitengehalt versteht man die auf das Frischgewicht bezogene Menge des gemessenen Metaboliten; Einheit: 10^{-6} Mol/g Frischgewicht. Im Gegensatz dazu bezieht sich die Metabolitenkonzentration auf den Lösungsraum eines bestimmten Gewebsanteiles, wie z.B. Parenchym, Blutgefäßsystem, interstitielles Bindegewebe.

TABELLE 1: Tabellarische Übersicht über die vorgenommenen Untersuchungen

Enzyme des glykolytischen Abbauweges
- Phosphoglukomutase
- Hexokinase
- Phosphoglukoseisomerase
- Fruktosephosphatkinase
- Diphosphofruktose-Aldolase
- Glyzerinaldehydphosphatdehydrogenase
- Phosphoglyzeratkinase
- Phosphoglyzeratmutase
- Enolase
- Pyruvatkinase
- Laktatdehydrogenase

Enzyme des Pentosephosphatweges
- Glukose-6-phosphatdehydrogenase
- 6-Phosphoglukonatdehydrogenase

Enzyme des Phosphatstoffwechsels
- Myokinase
- Adenosintriphosphatase
- Alkalische Phosphatase
- Saure Phosphatase

Metabolite des glykolytischen Abbauweges
- Glukose
- Glukose-6-phosphat
- Fruktose-1.6.-diphosphat
- Dihydroxyazetonphosphat
- Glyzerin-1-phosphat
- Pyruvat
- Laktat

Metabolite des Phosphatstoffwechsels
- Adenosintriphosphat
- Adenosinmonophosphat
- Adenosindiphosphat

Nukleinsäuren
- Ribonukleinsäure
- Desoxyribonukleinsäure

Untersuchungen zur Verlaufskontrolle
- Histochemie: Darstellung der alkalischen Phosphatase
  Darstellung der sauren Phosphatase
  Darstellung der sauren Thiaminpyrophosphatase
  Darstellung der Bernsteinsäuredehydrogenase
  Darstellung der proteingebundenen Sulfhydrylgruppen
- Histologie: Hämatoxilin-Eosin-Färbung
  Trichromfärbung nach MASSON

TABELLE 1 f.: Tabellarische Übersicht über die vorgenommenen Untersuchungen

Blutserum:	Harnstoff
	Kreatinin
	Anorganisches Phosphat
Blutbild:	Erythrozytenzählung
	Leukozytenzählung
	Eosinophilenzählung
	Differentialblutbild
	Alkalische Leukozytenphosphatase
Urin:	pH
	Eiweiß
	Glukose
	Hämoglobin
	Urinsediment

1.1. LITERATURÜBERSICHT

Nachdem LINDEMANN, W. [224] [225] 1900 erstmalig mittels Eiweißinjektionen experimentell Nierenschädigungen von vorwiegend tubulärem Charakter erzeugt hatte, gelang es MASUGI, M. und seinen Mitarbeitern [243] [244] [245] [246] [247] [248], in den Jahren 1933 bis 1936 das klassische Modell der experimentellen Glomerulonephritis beim Kaninchen und bei der Ratte zu erzeugen. MASUGI stellte dabei als erster die glomeruläre Schädigung in den Vordergrund seiner Betrachtungen und erkannte auch die immunologische Genese der Erkrankung. In der Folgezeit erschien eine Fülle von Arbeiten der verschiedensten Forschungsrichtungen und Zielsetzungen. Hier soll nur ein kurzer Überblick über die wesentlichsten Arbeiten gegeben werden.

1. Eine Gruppe von Autoren befaßte sich vorwiegend mit den experimentellen Bedingungen der Auslösung der Glomerulonephritis. Diese betreffen die möglichen Tierkombinationen (eine Übersicht darüber gibt ROTHER, K.O. [323]), die Herstellung der Anti-Nieren-Seren (MOENCH, A. [260]), die Abhängigkeit des Verlaufes von der verwendeten Menge der Anti-Nieren-Seren (MOENCH, A. [260]), die Verlaufsform als Nephritis oder Nephrose (MOENCH, A. [260]), die Modifikation der Schwere des Verlaufes durch Plasmapherese (KLUTHE, R. et al. [199], [%]), das notwendige Alter der Tiere (ERDMANN, G. [110] [111], HAMMER, D.K. et al. [154], KRAKOWER, C.A. et al. [202]), sowie die therapeutische Beeinflussung des Verlaufs der Erkrankung (Übersichten darüber finden sich bei ZOLLINGER, H.U. [419], ROTHER, K.O. [323] und PAUNZ, L. [289], ROTHER, K. et al. [324]).

2. Eine weitere Gruppe von Forschern beschäftigte sich mit den anatomischen Veränderungen. Über die lichtmikroskopischen Befunde gibt MOENCH, A. [254] einen Überblick, der auch die Ergebnisse von früheren Autoren berücksichtigt.
In jüngerer Zeit stehen elektronenoptische Untersuchungen in dem Vorder-

grund des Interesses. Erste Untersuchungen veröffentlichten WEINREB, M. S. et al. [404] und PIEL, C. F. et al. [300] [301]. Weiterführende grundlegende elektronenmikroskopische Untersuchungen leisteten FELDMANN, J. D. et al. [114], MOVAT, H. Z. et al. [226] [267], WINEMILLER, R. et al. [414] sowie CHURG, J. et al. [66] [67]. Mit den elektronenoptisch feststellbaren Frühveränderungen, die bereits nach wenigen Stunden auftreten, befaßte sich besonders die Arbeitsgruppe BOHLE, A. und MILLER, F. [32] [258]. Eine Verbindung zwischen elektronenoptischen Ergebnissen und Untersuchungen zur Immunpathogenese liefern ANDRES, G. A. et al. [7] [8], ARHEIGER, R. B. et al. [9] sowie RIFKIND, R. A. et al. [315] durch Auslösung der experimentellen Glomerulonephritis mittels ferritin-konjugierten Anti-Nieren-Seren, die, da elektronenoptisch sichtbar, den Ort der primären immunologischen Reaktion markieren. Alle diese Arbeiten zur Ultrastruktur der Niere bei experimenteller Glomerulonephritis befassen sich vornehmlich mit den glomerulären Veränderungen, d. h. mit der Strukturänderung der Basalmembran, den proliferativen Reaktionen des Endothels und den degenerativen Veränderungen des Epithels.

3. Kurz nach dem Erscheinen der grundsätzlichen Arbeit von MASUGI, M. [244] wurde von einer Reihe von Autoren der klinische Verlauf der Erkrankung durch physiologische Untersuchungen definiert; zu nennen sind: EHRICH, W. E. et al. [104] [105] (Urin-Befunde, Blutdruck, Rest-N), SARRE, H. [228] [229] (Durchblutung und Sauerstoffversorgung des Nierengewebes), SMADEL, J. E. [353] (Urin-Befund, Blutdruck, Rest-N, Blutbild[Ratte]), FOUTS, D. J. [122] (Urin-Befund, Blutdruck, Rest-N, Blutbild[Hund]), HARREN, T. [156] (Sauerstoffversorgung der Niere), MÖLLERS, H. et al. [264] [265] (Blutbild und Serumeiweißveränderungen), EARLE, D. P. et al. [102] (Urin-Befund, Blutdruck, Rest-N, Serumeiweißveränderungen, Blutbild).
Neuere Arbeiten über die Nierenphysiologie während der experimentellen Glomerulonephritis untersuchen die glomeruläre Filtration und die tubuläre Rückresorption (GUCKELBERGER, M. et al. [151], DUTZ, H. et al. [97], SCHIRMEISTER, J. et al. [335]), Elektrolytveränderungen im Serum und im Nierengewebe (AEBI, H. et al. [2], MOHR, D. [261], GRIBETZ, D.

et al. [148]) und Veränderungen im elektrophoretischen Serumeiweißbild sowie der Retention harnpflichtiger Substanzen (HEYMANN, W. et al. [162], HIERONYMI, G. et al. [163]).

4. Die Mehrzahl der über die experimentelle Glomerulonephritis erschienenen Arbeiten befaßt sich mit dem Problem der Immunpathogenese dieser Erkrankung. Die von MASUGI, M. [245] aufgestellte Theorie der krankheitsauslösenden Wirkung des in den Glomerula gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexes wurde durch die Untersuchungen von SARRE, H. et al. [232] [233], KAY, C.F. [179] [180] widerlegt. KAY, C.F. [179] [180] stellte die Zweiphasentheorie auf, die in ihrer Grundkonzeption noch als Arbeitsgrundlage der Immunpathogenese angesehen wird. Die Lokalisation der primären immunologischen Vorgänge wurde mit der von COONS, A.H. et al. [72] angegebenen Methode der Immunfluoreszenz von mehreren Arbeitsgruppen untersucht (GREENSPON, S.A. et al. [145], KRAKOWER, C.A. et al. [201], MELLORS, R.C. [254], ORTEGA, L.G. et al. [287], SEEGAL, B.C. et al. [345], TRIEDMAN, R.S. [379], HAMMER, K.D. et al. [153]). Die Frage der unterschiedlichen Latenzzeit zwischen Injektion des Anti-Nieren-Serums und dem Ausbruch der Erkrankung bei verschiedenen Tierkombinationen lenkte die Aufmerksamkeit einer Reihe von Arbeitsgruppen auf die Komplementbeteiligung bei der Antigen-Antikörper-Reaktion (HAYASI, D. [157], PRESSMAN, D. et al. [308], LANGE, K. et al. [216], KLEIN, P. et al. [195] [196], LACHMANN, P.J. et al. [211]).

Zusammenfassende Darstellungen der komplizierten immunologischen Vorgänge und die daraus abgeleiteten verschiedenen Theorien zur Immunpathogenese der experimentellen Glumerulonephritis finden sich bei: ROTHER, K.O. [323], SARRE, H. et al. [331], ZOLLINGER, H.U. [419] und PAUNZ, L. [289].

5. In jüngerer Zeit wurden von verschiedenen Autoren auf dem Grenzgebiet zwischen Morphologie und Biochemie, der Histochemie, insbesondere der Enzymhistochemie, eine Reihe von grundsätzlichen Arbeiten über die Verhältnisse bei der normalen Niere und der pathologisch veränderten Niere veröffentlicht. Neben einer Vielzahl von anderen experimentellen Nieren-

erkrankungen wurde besonders auch die experimentelle Glumerulonephritis der Ratte und des Kaninchens untersucht. Die wesentlichen Arbeiten lieferten: VOGT, H. et al. [387], CAREDDU, P. [61] [62], LANGE, K. et al. [217], FISCHER, E.R. et al. [116] und vor allem WACHSTEIN, M. et al. [388] [389] [392] [393] [395].

6. Eine Weiterentwicklung der üblichen qualitativen histochemischen Methoden stellen die quantitativen histochemischen Methoden dar. Diese wurden zuerst von LINDERSTRØM-LANG, K.U. et al. [226] [227] [228] [229] [230] angegeben und durch LOWRY, H.O. et al. [234] [235] [236] [237] am Hirngewebe sowie durch GLICK, D. [137] weiterentwickelt. Ihre erste Anwendung auf die Niere fanden diese hoch empfindlichen mikrochemischen Spektral-Fluoreszenz-Analysen, gekoppelt mit Mikrodissektionsmethoden durch McCann, W.P. [60] an der Hundeniere. Aber erst die Arbeitsgruppen: 1.) POLLAK, V.E., MATTENHEIMER, H. und BONTING, S.L. [306] [249] [36]; 2.) DUBACH, U.C. und RECANT, L. [86] [87] und 3.) KISSANE, J.M. [192] wandten diese Methoden in größerem Umfange auf die normale und experimentell veränderte Rattenniere an. Neben diesen Mikrodissektionsmethoden, die einen erheblichen Zeitaufwand benötigen, entwickelten RICHTERICH, R. et al. [313] [314], HOLMGARD, A. [167], COOK, F.W. et al. [71], FONG, J.S. et al. [121] und NAGANO, M. et al. [272] eine Methode zur präparativen Trennung von glomerulären und tubulären Elementen in der Rattenniere. Auch diese drei Arbeitsgruppen untersuchten sowohl die normale als auch die pathologisch veränderte Rattenniere (sie Tabelle 2, 3 und 4). Die entzündliche Verlaufsform der experimentellen Nephritis-Nephrose ist von FRANZ, H.E. et al. [123] und GREGOIRE, F. et al. [146] [147] untersucht worden. An der normalen Kaninchenniere sind diese quantitativ-histochemischen Untersuchungen wegen des Reichtums an Bindegewebe in der Kaninchenniere und der dadurch bislang nur unsauberen Trennung der Gewebselemente nur sehr wenig durchgeführt worden; für die pathologisch veränderte Kaninchenniere liegen bislang keine Untersuchungen vor.

TABELLE 2: Quantitative Enzym-Histochemie an der normalen Säugeniere

Tier	Enzym	Autor	Methode[1)]
Ratte	ALD	NAGANO, M. et al. [272][273]	Mi.
	ALD	RICHTERICH, R. et al. [314]	Mi.
	ALD	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Ratte	AOX	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
Ratte	AP	KISSANE, J.M. [192]	Md.
	AP	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
	AP	BONTING, S.L. et al. [37]	Md.
	AP	DUBACH, U.C. et al. [87] [95]	Md.
	AP	KARK, R.M. et al. [177]	Md.
	AP	BRANDLEY, S.E. et al. [43]	Md.
	AP	RICHTERICH, R. et al. [314]	Mi.
Ratte	CAD	MATTENHEIMER, H. et al. [251] [249]	Md.
Ratte	CS	MATTENHEIMER, H. et al. [251]	Md.
Ratte	CYOX	SCHAFROTH, P. et al. [356]	Mi.
Ratte	CYRE	SCHAFROTH, P. et al. [356]	Mi.
Ratte	F-1-P-ALD	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
Ratte	GDH	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
	GDH	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
Ratte	GL	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
Ratte	GMDH	KISSANE, J.M. [192]	Md.
	GMDH	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Ratte	G-6-PDH	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
	G-6-PDH	RICHTERLICH, R. et al. [314]	Mi.
	G-6-PDH	KISSANE, J.M. [192]	Md.
	G-6-PDH	MATTENHEIMER, H. et al. [249] [250]	Md.
	G-6-PDH	DUBACH, U.C. et al. [95]	Md.
Ratte	GOT	KISSANE, J.M. [192]	Md.
	GOT	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
Ratte	GPT	MATTENHEIMER, H. et al. [249] [250]	Md.
Ratte	HK	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
	HK	DUBACH, U.C. et al. [95]	Md.
Ratte	ICDH	RICHTERICH, R. et al. [314]	Mi.
	ICDH	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
	ICDH	KISSANE, J.M. [192]	Md.
	ICDH	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
	ICDH	DUBACH, U.C. et al. [95]	Md.
Ratte	LAP	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Ratte	LDH	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
	LDH	RICHTERICH, R. et al. [314] [315]	Mi.
	LDH	KARK, R.M. et al. [177]	Md.
	LDH	BONTING, S.L. et al. [38]	Md.
	LDH	DUBACH, U.C. et al. [86] [95]	Md.

1) Md. = Mikrodissektion
Mi. = Massenisolierung

TABELLE 2 f.: Quantitative Enzym-Histochemie an der normalen Säugeniere

Tier	Enzym	Autor	Methode
	LDH	KISSANE, J.M. [192]	Md.
	LDH	MATTENHEIMER, H. et al. [249] [250]	Md.
	LDH	THIELE, K. et al. [366]	Md.
Ratte	MDH	DUBACH, U.C. et al. [95]	Md.
	MDH	KISSANE, J.M. [192]	Md.
	MDH	MATTENHEIMER, H. et al. [249] [250]	Md.
	MDH	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
	MDH	RICHTERICH, R. et al. [314]	Mi.
Ratte	PK	NAGANO, M. et al. [272] [273]	Mi.
Ratte	SDH	SCHAFROTH, P. et al. [366]	Mi.
Ratte	SP	DUBACH, U.C. [86]	Md.
Kaninchen	ALD	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
Kaninchen	AP	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
Kaninchen	AP	OLIVER, J. et al. [286]	Md.
Kaninchen	AP	BONTING, S.L. et al. [37]	Md.
Kaninchen	GAPDH	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
Kaninchen	HK	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
Kaninchen	LDH	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
Kaninchen	LDH	BONTING, S.L. et al. [38]	Md.
Kaninchen	PK	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
Hund	ALD	McCANN, W.P. [60]	Md.
	ALD	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Hund	AP	BONTING, S.L. et al. [37]	Md.
	AP	KARK, R.M. et al. [177]	Md.
	AP	BRANDLEY, S.E. et al. [43]	Md.
	AP	BREDA-VRIESMAN, P.J. van [44]	Md.
	AP	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
Hund	CAD	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
Hund	CS	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
Hund	GL	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
Hund	GMDH	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
Hund	G-6-PDH	MATTENHEIMER, H. et al. [249]	Md.
Hund	GOT	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
Hund	GPT	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
Hund	HK	McCANN, W.P. [60]	Md.
Hund	ICDH	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Hund	LAP	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Hund	LDH	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
	LDH	KARK, R.M. et al. [177]	Md.
	LDH	BONTING, S.L. et al. [38]	Md.
Hund	MDH	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [251]	Md.
Affe	AP	OLIVER, J. et al. [286]	Md.
	AP	BONTING, S.L. et al. [37]	Md.
Affe	LDH	BONTING, S.L. et al. [38]	Md.

TABELLE 2 ff.: Quantitative Enzym-Histochemie an der normalen Säugerniere

Tier	Enzym	Autor	Methode
Mensch	ALD	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
Mensch	AOX	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
Mensch	AP	POLLAK, V.E. et al. [306] [303]	Md.
	AP	BONTING, S.L. et al. [33] [37]	Md.
	AP	DUBACH, U.C. [87] [88]	Md.
	AP	KARK, R.M. et al. [177]	Md.
	AP	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [252]	Md.
Mensch	CAD	MATTENHEIMER, H. et al. [250] [252]	Md.
Mensch	CS	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
	CS	POLLAK, V.E. et al. [306]	Md.
Mensch	GMDH	MATTENHEIMER, H. et al. [249] [250]	Md.
	GMDH	POLLAK, V.E. et al. [306]	Md.
Mensch	G-6-Pase	BONTING, S.L. et al. [33]	Md.
Mensch	GL	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
	GL	POLLAK, V.E. et al. [306]	Md.
Mensch	G-6-PDH	DUBACH, U.C. [87] [88]	Md.
	G-6-PDH	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Mensch	GOT	POLLAK, V.E. et al. [306]	Md.
	GOT	MATTENHEIMER, H. et al. [249] [250]	Md.
Mensch	GPT	MATTENHEIMER, H. et al. [249] [250]	Md.
Mensch	ICDH	DUBACH, U.C. [87] [88]	Md.
	ICDH	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Mensch	LAP	MATTENHEIMER, H. [249]	Md.
Mensch	LDH	BONTING, S.L. et al. [38]	Md.
	LDH	DUBACH, U.C. [87] [90]	Md.
	LDH	KARK, R.M. et al. [177]	Md.
	LDH	POLLAK, V.E. et al. [306] [303]	Md.
	LDH	MATTENHEIMER, H. et al. [252] [250]	Md.
Mensch	MDH	DUBACH, U.C. [87]	Md.
	MDH	MATTENHEIMER, H. et al. [250]	Md.
	MDH	POLLAK, V.E. et al. [306]	Md.
Mensch	SP	BONTING, S.L. et al. [33]	Md.
Mensch	ATPase	BONTING, S.L. et al. [33]	Md.

TABELLE 3: Quantitative Enzym-Histochemie bei experimentellen Nierenerkrankungen

Erkrankung	Tier[1]	Enzym	Autor	Methode
Nephritis	R	ALD	FRANZ, H.E. et al. [123]	Mi.
	R	GOT	FRANZ, H.E. et al. [123]	Mi.
	R	C-6-PDH	GREGOIRE, F. et al. [146] [147]	Md.
	R	ICDH	FRANZ, H.E. et al. [123]	Mi.
	R	LAP	FRANZ, H.E. et al. [123]	Md.
	R	LDH	GREGOIRE, F. et al. [146] [147]	Md.
	R	LDH	FRANZ, H.E. et al. [123]	Mi.
	R	MDH	FRANZ, H.E. et al. [123]	
Nephrose	R	AP	DUBACH, U.C. et al. [89] [93] [96]	Md.
	R	C-6-PDH	DUBACH, U.C. et al. [89] [93] [96]	Md.
	R	HK	DUBACH, U.C. et al. [93] [95]	Md.
	R	ICDH	DUBACH, U.C. et al. [89] [93] [95]	Md.
	R	LDH	DUBACH, U.C. et al. [89] [93] [95]	Md.
	R	MDH	DUBAHC, U.C. et al. [89] [93] [95]	Md.
Aminonukleotid-Nephrose	R	AP	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	AP	DUBACH, U.C. et al. [99]	Md.
	R	GLAP	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	GMDH	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	GOT	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	G-6-PDH	DUBACH, U.C. et al. [94]	Md.
	R	G-6-PDH	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	HK	DUBACH, U.C. et al. [94]	Md.
	R	ICDH	DUBACH, U.C. et al. [94]	Md.
	R	ICDH	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	LDH	DUBACH, U.C. et al. [94]	Md.
	R	LDH	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	MDH	DUBACH, U.C. et al. [94]	Md.
	R	MDH	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	6-PGH	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
	R	SP	KISSANE, J.M. et al. [194]	Md.
Pyelonephritis (akut u. chronisch)	K	ALD	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
	K	AP	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
	K	GAPDH	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
	K	HK	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
	K	LDH	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
	K	PK	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.
	K	SP	PHILIPPSON, Chr. [299]	Mi.

1) R = Ratte
K = Kaninchen
H = Hund

TABELLE 3 f.: Quantitative Enzym-Histochemie bei experimentellen Nierenerkrankungen

Erkrankung	Tier	Enzym	Autor	Methode
Hydro-	R	G-6-PDH	KISSANE, J.M. et al. [193]	Md.
nephrose	R	6-PGH	KISSANE, J.M. et al. [193]	Md.
Mg^{2+}-Mangel	R	G-6-PDH	VILCHEZ, J. et al. [385]	Mi.
	R	LDH	VILCHEZ, J. et al. [385]	Mi.
K^{+}-Mangel	H	ALD	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	R	AP	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.
	H	F-1-P-ALD	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	R	GDH	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.
	R	GLAP	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.
	R	GOT	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.
	H	GOT	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	H	GPT	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	H	G-6-Pase	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	R	G-6-PDH	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.
	H	G-6-PDH	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	H	HK	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	R	ICDH	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.
	R	LDH	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.
	R	LDH	MUEHRKE, R.C. et al. [268]	Md.
	H	LDH	NAGANO, M. et al. [271]	Mi.
	R	MDH	WILSON, D.M. et al. [413]	Md.

TABELLE 4: Quantitative Enzym-Histochemie bei menschlichen Nierenerkrankungen

Enzym	Krankheit	Autor	Methode
AP	Fam. renale Glukosurie	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	Hypophosphatasie	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	Hypophosphatasie	ROSENTHAL, J.M. et al. [321]	Md.
	Cystin-Speicher-Krankheit	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	FANCONI-Syndrom	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	Nephrot. Syndrom	DUBACH, U.C. [87]	Md.
	Lupus-Nephritis	POLLAK, V.E. et al. [305]	Md.
LDH	Fam. renale Glukosurie	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	Hypophosphatasie	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	Cystin-Speicher-Krankheit	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	FANCONI-Syndrom	POLLAK, V.E. et al. [304]	Md.
	Nephrot. Syndrom	DUBACH, U.C. [87]	Md.
	Lupus-Nephritis	POLLAK, V.E. et al. [305]	Md.
G-6-PDH	Nephrot. Syndrom	DUBACH, U.C. [87]	Md.
MDH	Nephrot. Syndrom	DUBACH, U.C. [87]	Md.
ICDH	Nephrot. Syndrom	DUBACH, U.C. [87]	Md.

2. METHODEN

2.0. MATERIAL

Für die Tierversuche wurden ausschließlich graue und schwarze reinrassige männliche Kaninchen verwendet. Die grauen und schwarzen Tiere wurden den, für die Erzeugung immunbiologischer Erkrankungen häufiger verwendeten, da ausgeprägter reagierenden, Albino-Kaninchen vorgezogen, um einen möglichst milden, spontan zur Ausheilung gelangenden Krankheitsverlauf zu erzeugen. Es gelang dadurch, bei allen Tieren einen tödlichen Ausgang der Erkrankung vor dem Abbruch derselben durch das eigentliche Experiment zu verhindern. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 2.5 kg und 3.5 kg; dadurch wurde erreicht, daß die Tiere die vorwiegend entzündliche Phase der Nephritis-Nephrose entwickelten (MOENCH, A. et al. [260]. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten und mit Trockenkost und Wasser ad libidum gefüttert.[1)]

1) ALTROMIN ^{R} $_{K}$ - Vitaminierte Trockenkost für Kaninchen, [Altromin GmbH, Lage (Lippe)]

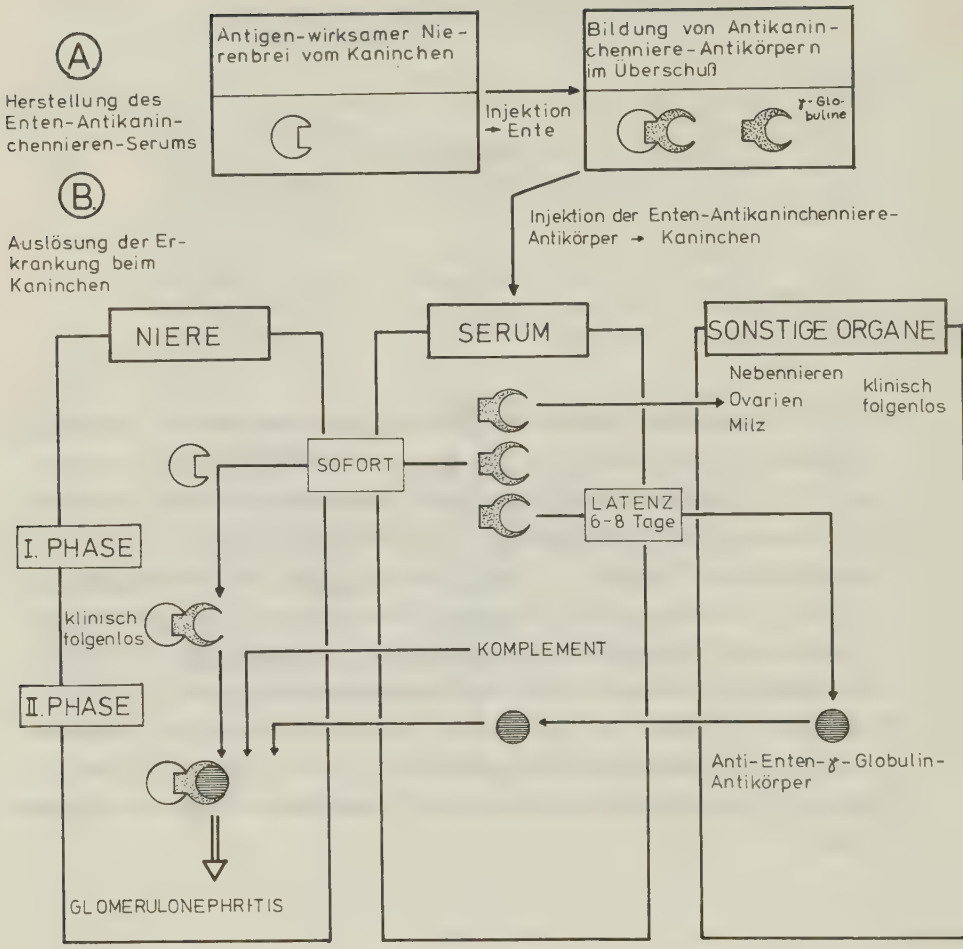


Abb. 1
Schema des immunbiologischen Ablaufes der experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens auf der Grundlage der KAYschen Zweiphasentheorie

2.1. ERZEUGUNG DER GLOMERULONEPHRITIS

2.1.0. Herstellung des Enten-Antikaninchennieren-Serums

Das Enten-Antikaninchennieren-Serum wurde nach den Angaben von MOENCH, A. et al. [260] in der folgenden, geringfügig modifizierten Weise dargestellt.

A. Gewinnung des Antigens aus Kaninchennieren:

1. 6 Kaninchen (Gewicht: 2.5 bis 3.5 kg) werden mit ca. 1 ml/kg Körpergewicht 5-[2-Bromallyl]-5'-butylbarbitursäure (PERNOCTON ^{R}) i.v. narkotisiert; die Nieren werden entnommen und durch die A. renalis mit 0.9 % Natriumchloridlösung bis zur Blutleere perfundiert.
2. Nach dem Perfundieren wird die Nierenkapsel und das Bindegewebe des Nierenbeckensystems entfernt, das Nierengewebe mit dem Messer zerkleinert und zwischen Mullkompressen überschüssige Flüssigkeit abgepreßt; Bestimmung des Frischgewichtes (ca. 80 bis 100 g).
3. Homogenisieren der Nieren im Multimix oder Homogenisator[1] unter Zusatz geringer Mengen von Azeton.
4. Weiterer Zusatz von Azeton bis zur doppelten Menge des Nierenfrischgewichtes (ca. 200 ml); 5 Min. rühren.
5. Unterdruckfiltration mit Saugflasche und BÜCHNER-Trichter; mit ca. 200 ml Azeton nachspülen. 12 Stunden im Exsicator über Kalziumchlorid trocknen.
6. Gefriertrocknung im Hochvakuum[2] und Trockengewichtsbestimmung (ca. 12 bis 16 g).
7. Zerkleinern der Trockensubstanz im Mörser und Auslesen noch vorhandener sichtbarer Bindegewebsbestandteile.

---

1) Homogenisator Ultra-Turrax T 45, JANKEL und KUNKE KG Stauffen/i.Br.
2) Cryolizer Model B 65; New Brunswik Scientific Co. Inc. Dauer: 24 h

8. Aufteilen des Pulvers in 20 Portionen (je 0.6 bis 0.8 g) und im Reagenzglas unter Kieselgel zur Trocknung einschmelzen.

B. Behandlung der Enten

1. Aufschwemmen einer Portion des antigenen Nierenextraktes in 5 ml 0.9% Natriumchloridlösung in einem Mörser; 5 Min. quellen lassen und mit dem Pistill solange zerreiben, bis eine homogene Masse entstanden ist.
2. Bei zwei Enten intraperitoneale Injektion von je 2.5 ml der Suspension; 3mal wöchentlich; insgesamt 20 Injektionen/pro Tier.
3. 4 Tage nach der letzten Injektion wird das Entenserum gewonnen.

C. Gewinnung des Enten-Antikaninchennieren-Serums

1. Heparinisierung des Entenblutes durch intraperitoneale Injektion von 15 000 I.E. Heparin (3 ml LIQUEMIN ^{R}) eine halbe Stunde vor dem Entbluten.
2. Tötung der Enten durch Nackenschlag. Entbluten durch Durchschneiden der großen Halsgefäße; Blut auf Raumtemperatur abkühlen und gerinnen lassen.
3. Zweimaliges Zentrifugieren des Blutes (je 10 Min. bei 3000 U/Min. = 800 x g[1] und 0° C); Dekantieren der Serumfraktion (ca. 80 bis 100 ml).
4. Inaktivierung des Serums im Wasserbad bei 56° C für 60 Min.
5. Eiweißbestimmung im Serum nach BÜCHER, T. [47] (6 bis 8 g%).
6. Abfüllen des nephrotoxischen Serums in Portionen von 3 ml und Aufbewahrung bei -20° C.

---

1) SORVAL-RC-2 Automatic superspeed refrigerated Centrifuge (Radius des Rotors 12 cm)

2.1.1. Behandlung der Kaninchen

Bei den Kaninchen wurde durch eine intravenöse Injektion von 1 ml/kg Lebendgewicht Enten-Antikaninchennieren-Serum bei einem Eiweißgehalt von 7 g% die Nephritis-Nephrose mit vorwiegend entzündlichem Charakter hervorgerufen.

2.2. HISTOCHEMISCHE UND HISTOLOGISCHE METHODEN

2.2.0. Präparation und Auswertung

Aus der frisch exstirpierten Kaninchenniere wurden zwei Gewebskeile so herausgenommen, daß sowohl der Rindenbezirk, als auch der Markanteil bis zur Papillenspitze darin enthalten waren. Davon wurde ein Gewebsteil sofort mit Kohlendioxydschnee eingefroren und bei -20° C bis zur histochemischen Aufarbeitung, die innerhalb von 24 bis 36 Stunden nach der Tötung des Tieres erfolgte, aufbewahrt. Für die histochemischen Untersuchungen wurden Kryostatschnitte[1] von 10×10^{-3} cm Dicke hergestellt. Das zweite Gewebsstück wurde nach Fixation in CARNOY'scher Flüssigkeit (1 Stunde/mm Gewebsdicke) in Paraffin eingebettet und später zur histologischen Kontrolle des Krankheitsverlaufes herangezogen.

Die histochemischen Reaktionen wurden halbquantitativ ausgewertet. Dabei wurde subjektiv das Ausmaß der färbenden Präzipitation, getrennt in den folgenden Strukturen, bewertet:

1. Glomerula
2. Tubuli (proximal und distal in der Rindenzone)
3. Tubuli (proximal und distal im Außenstreifen des Marks)
4. Tubuli (im Markbereich)
5. Tubuli (in der Markspitze)
6. Bindegewebsreaktion im Rindenbereich
7. Bindegewebsreaktion im Markbereich

Grade der Präzipitation:

0 - keine Reaktion
1 - schwache Reaktion
2 - mittelstarke Reaktion
3 - starke Reaktion

---

[1] Kryostat der Firma W. DITTES, Heidelberg mit Serienschnittmikrotom der Firma R. JUNG, Heidelberg

2.2.1. Alkalische Phosphatase

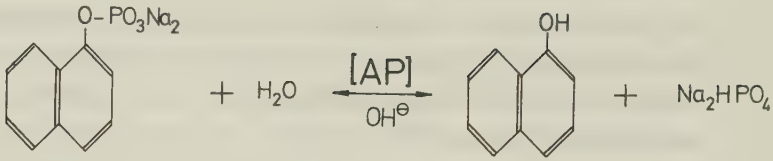
(0.) Diazo-Kupplungsmethode

Die Darstellung der alkalischen Phosphatase mit der simultanen Diazo-Kupplungsmethode erfolgte nach den Angaben von MENTEN, M.L. et al [255], PEARSE, A.G.E. [290], PEARSE, A.G.E. [293], ADAM, A. et al. [1] und BARKA, T. et al. [19].

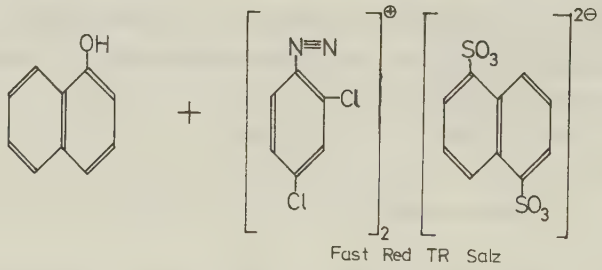
Prinzip der Methode:

Enzymatische Abspaltung von Phosphat aus α-Naphthylphosphat α-Naphthol; Kupplungsreaktion von α-Naphthol mit Fast Red TR-Salz (diazotiertes 2-Amino-5-Chlortoluol).

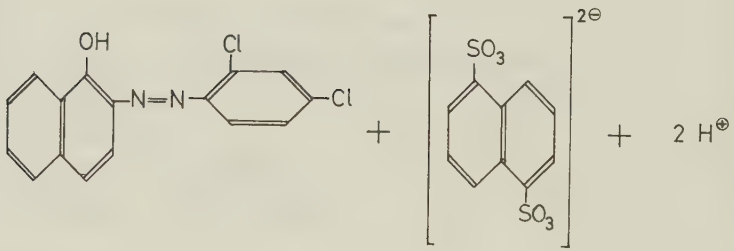
1.) Bestimmunsreaktion:



2.) Indikatorreaktion:



Fast Red TR Salz



Inkubationslösung:

20 mg α-Naphthylphosphat, Na-Salz p.a. (S)

20 ml 0.1 M TRIS-Puffer[1] pH 10.0

20 mg Fast Red TR, Salz, rein (S)

Filtrieren und auf die fixierten und getrockenten Schnitte auftropfen.

Durchführung der Färbereaktion:

1. Fixation in Aceton[2]	60 Min./ 4° C
2. Trocknen	10 Min./25° C
3. Inkubationslösung (frisch angesetzt)	15 Min./25° C
4. Destilliertes Wasser	3 Min.
5. Kernfärbung mit Hämalaun nach MAYER (M)	2 Min.
6. Spülen mit fließendem Leitungswasser	15 Min.
7. Eindecken in Glyceringelatine nach KAISER (M)	

Auswertung:

Orte mit enzymatischer Aktivität sind leuchtend braunrot angefärbt.

Kontrolle:

Hemmung der Reaktion durch Behandlung der Schnitte mit 75° C Wasserbad für 10 Minuten.

---

1) Puffertabellen in KEIL, B. et al. [185]
2) nach NOVIKOFF, A.B. et al. [283]

2.2.1. Alkalische Phosphatase

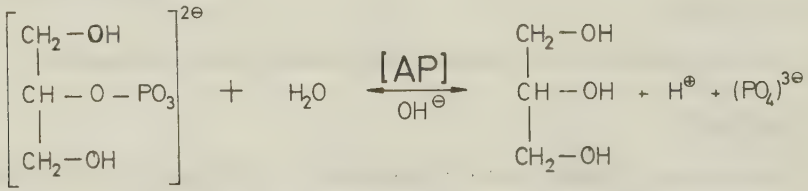
(1.) Kobaltsufid-Fällung nach GOMORI

Die Darstellung der alkalischen Phosphatase nach der Metallsulfid-Fällungsmethode wurde entsprechend den Angaben von GOMORI, G. [140], PEARSE, A.G.E. [293], ADAM, A. et al. [1] und BARKA, T. et al. [19] durchgeführt.

Prinzip der Bestimmung

Enzymatische Abspaltung von Phosphat aus Na-β-glyzerophosphat und Fällung des Phosphates als Kalziumphosphat in alkalischem Milieu; Kationenaustausch mit Kobaltnitratlösung zu Kobaltphosphat und Umfällung mit Ammoniumsulfid zu schwarzem Kobaltsulfid.

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Hilfsreaktionen:

3.) Indikatorreaktion:

Inkubationslösung

0.6 g Natrium-β-glyzerophosphat p.a. (M)

1.0 g Kalziumchlorid p.a.

0.5 g Natrium-Veronal p.a.

100.0 ml Destilliertes Wasser

Einstellen der Lösung auf einen pH von 9.2. mit 0.1 N Salzsäure[1)]

Durchführung der Färbereaktion

1.	Fixation in Aceton	60 Min./ 4° C
2.	Trocknen	10 Min./20° C
3.	Inkubationslösung (frisch angesetzt)	20 Min./37° C
4.	Waschen in 2% wässriger Kalziumchloridlösung	2 Min.
5.	Kationenaustausch mit 2% wässriger Kobaltnitrat-lösung	2 Min.
6.	Waschen in 4 Trögen destillierten Wassers, das mit einigen Tropfen 0.1 M Barbital-Natrium Puffers (Stammlösung nach MICHAELIS) alkalisch gemacht wurde[2)]	1 Min.
7.	Kobaltsulfidfällung mit 1%iger wässriger Lösung von gelbem Ammoniumsulfid	5 Min.
8.	Waschen in 2 Trögen destillierten Wassers je	10 Min.
9.	Kernfärbung mit Lithiumcarmin nach ORTH[3)]	30 Min.
10.	Differenzieren in 70%Äthanol mit 1% Salzsäure-gehalt	5 Min.
11.	Entwässern: 80% Äthanol	2 Min.
	96% Äthanol	3 Min.
	100% Äthanol	5 Min.
	Karboxylol	2 Min.

1) pH Messung mit Radiometer, Kopenhagen. Typ PHM 22; mit Glaselektrode Typ G 202

2) Puffertabelle in KEIL, B. et al. [184]

3) Herstellung nach ROMEIS, B. [320]

Xylol I	5 Min.
Xylol II	5 Min.

12. Eindecken in MALLINOL ^{R} (CH)

Auswertung:

Orte der Enzymaktivität sind schwarz gefärbt. Das Zellplasma zeigt eine zartrosa Tönung; die Zellkerne haben eine karminrote Farbe.

Kontrolle:

Hemmung der enzymatischen Reaktion durch Behandlung der Schnitte mit 75° C Wasserbad für 10 Minuten.

2.2.2. Saure Phosphatase

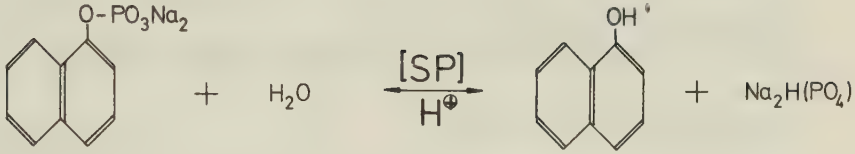
(0.) Diazo-Kupplungsmethode

Die histochemische Darstellung der unspezifischen sauren Phosphatase wurde nach den methodischen Angaben von GROGG, E. et al. [150], PEARSE, A.G.E. [293], ADAM, A. et al. [1] und BARKA, T. et al. [19] vorgenommen.

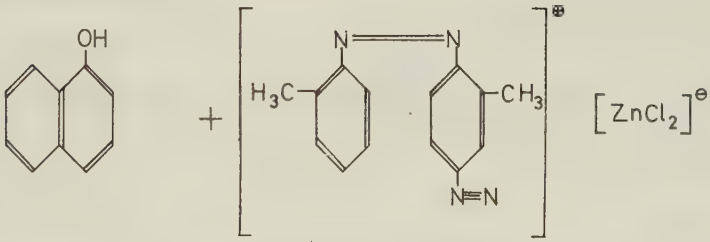
Prinzip der Darstellung

Enzymatische Abspaltung von Phosphat aus α-Naphthylphosphat in saurem Medium. Kupplungsreaktion des frei werdenden α-Naphthols mit Fast Garnett GBC Salz (Diazotiertes O-Amino-azotoluol).

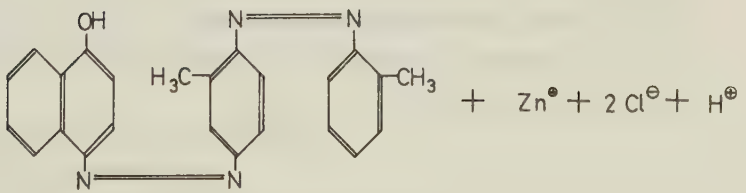
1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Indikatorreaktion:



Fast Garnett GBC Salz



Inkubationslösung

20 mg α-Naphthylphosphat Na-Salz p.a. (S)

20 ml 0.1 M Veronal-Natriumacetatpuffer (nach MICHAELIS[1]) pH 5.0

1,5 g Polyvinylpyrolidon

20 mg Fast Garnet GBC Salz, rein (S)

Filtrieren und auf die fixierten und getrockneten Schnitte auftropfen

Durchführung der Färbereaktion

1. Fixation in Aceton	60 Min./ 4° C
2. Trocknen	30 Min./37° C
3. Inkubationslösung (frisch angesetzt)	30 Min./37° C
4. Destilliertes Wasser	2 Min.
5. Kernfärbung mit Hämalaun nach MAYER	2 Min.
6. Spülen in fließendem Leitungswasser	15 Min.
7. Eindecken in Glyceringelatine nach KAISER	

Auswertung:

Orte mit enzymatischer Aktivität sind deutlich braunrot gefärbt. Die Zellkerne zeigen eine blasse blauviolette Farbe.

Kontrolle:

Zur Sicherstellung, daß es sich bei der Reaktion um saure Phosphatase handelt, wurde eine Hemmreaktion durchgeführt: Zusatz von Natriumfluorid zur Inkubationslösung in einer Konzentration von 10^{-1}M (= 420 mg/100 ml Inkubationslösung).

---

1) Puffertabellen in BARKA, T. et al. [19]

2.2.2. Saure Phosphatase

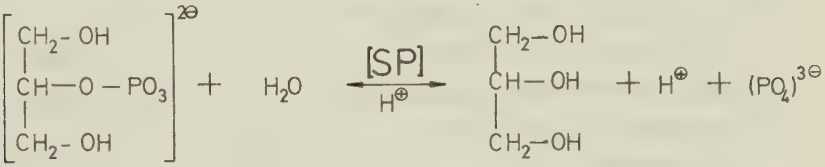
(1.) Bleisulfidfällung nach GOMORI

Die histochemische Darstellung der sauren Phosphatase erfolgte nach der Methode von GOMORI, G. [142] entsprechend den Angaben von PEARSE, A.G.E. [293], BARKA, T. et al. [19] sowie ADAM, A. et al. [1].

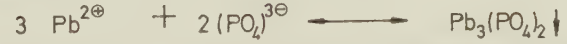
Prinzip der Methode

Fällung des freigesetzten Phosphates mit Pb^{2+}-Ionen und Umfällung des Bleiphosphates mit Ammoniumsulfid zu Bleisulfid.

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Hilfsreaktion:



3.) Indikatorreaktion:

Inkubationslösung:

Lösung I:

10 ml 0.1 M TRIS-Maleat-Puffer pH 5.0[1)]

10 ml Destilliertes Wasser

10 ml 1.25% Na-β-Glyzerophosphatlösung, die vorher mit 1 N HCl auf einen pH von 5.0 eingestellt wurde.

---

1) Puffertabellen nach HALLMANN, L. [152]

Lösung II:

20 ml 0.2% Bleinitratlösung

Lösung II wird vor Gebrauch tropfenweise bei 37° C unter ständigem heftigen Rühren zu Lösung I zugesetzt.

Durchführung der Färbereaktion

1. Fixation in Aceton	60 Min./ 4° C
2. Trocknen	30 Min./37° C
3. Inkubationslösung (frisch angesetzt)	120 Min./37° C
4. Waschen in 4 Trögen mit destilliertem Wasser	1 Min.
5. Bleisulfidfällung mit 1%iger gelber Ammoniumsulfidlösung	5 Min.
6. Spülen in destilliertem Wasser	5 Min.
7. Kernfärbung mit Hämalaun nach DELAFIELD 1 : 10 verdünnt	15 Min.
8. Spülen mit fließendem Leitungswasser	30 Min.
9. Eindecken in Glyceringelatine nach KAISER (M)	

Auswertung:

Orte enzymatischer Aktivität färben sich dunkelbraun bis schwarz an. Die Zellkerne sind blaßblau gefärbt.

Kontrolle:

Behandlung eines Schnittes vor der Inkubation mit 0.01 M Natriumfluoridlösung (= 42 mg/100 ml) bei 37° C für 5 Minuten.

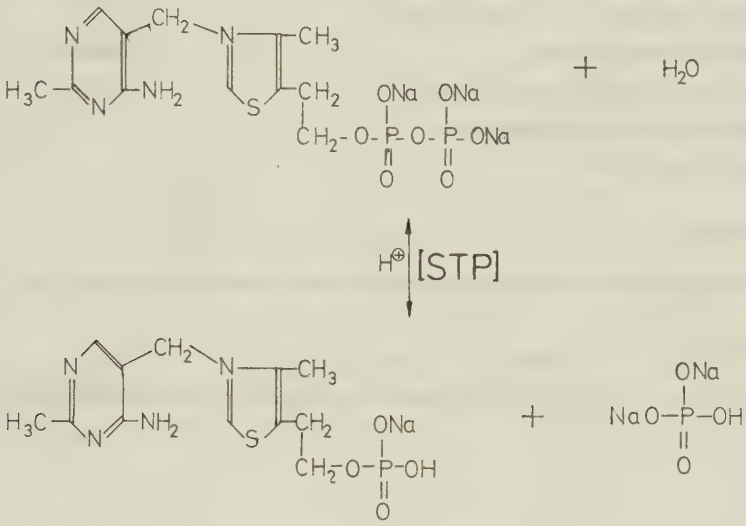
2.2.3. Saure Thiaminpyrophosphatase

Die histochemische Darstellung der sauren Thiaminpyrophosphatase erfolgte nach den Angaben von ERANKÖ, O. et al. [108], PRATT, O.E. [307a], MÜLLER W. et al. [270] und ALLEN, J.M. et al. [3].

Prinzip der Bestimmung

Enzymatische Phosphatfreisetzung aus Thiaminpyrophosphat; Fällung des Phosphates mit Pb^{2+}-Ionen und Umfällung des Bleiphosphates mit Ammoniumsulfid zu Bleisulfid.

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Hilfsreaktion:

$$2\ (PO_4)^{3\ominus} + 3\ Pb^{2\oplus} \longleftrightarrow Pb_3(PO_4)_2\downarrow$$

3.) Indikatorreaktion:

$$Pb_3(PO_4)_2\downarrow + 3\ S^{2\ominus} \longleftrightarrow 3\ PbS\downarrow + 2\ (PO_4)^{3\ominus}$$

Inkubationslösung:

0.70 g Thiaminpyrophosphat Na-Salz, reinst [MERCK]

0.50 g Bleinitrat p.a.

150 ml 0.03 M Natriumveronal-Natriumacetat-Puffer nach MICHAELIS

Einstellen auf einen pH von 5.5

Durchführung der Färbereaktion

1.	Fixation in 10% Formalin	15 Min./ 4°C
2.	Waschen in destilliertem Wasser	2 Min./ 4°C
3.	Trocknen	30 Min./25°C
4.	Inkubationslösung (frisch angesetzt)	90 Min/37°C
5.	Dreimal in destilliertem Wasser waschen	je 5 Min.
6.	Bleisulfidfällung mit 1%iger gelber Ammoniumsulfidlösung	10 Min.
7.	Waschen in destilliertem Wasser	10 Min.
8.	Eindecken in Glyceringelatine nach KAISER (M)	

Auswertung:

Orte enzymatischer Aktivität färben sich dunkelbraun bis schwarz an.

Kontrolle:

Inkubation der Schnitte in thiaminpyrophosphatfreier Inkubationslösung.

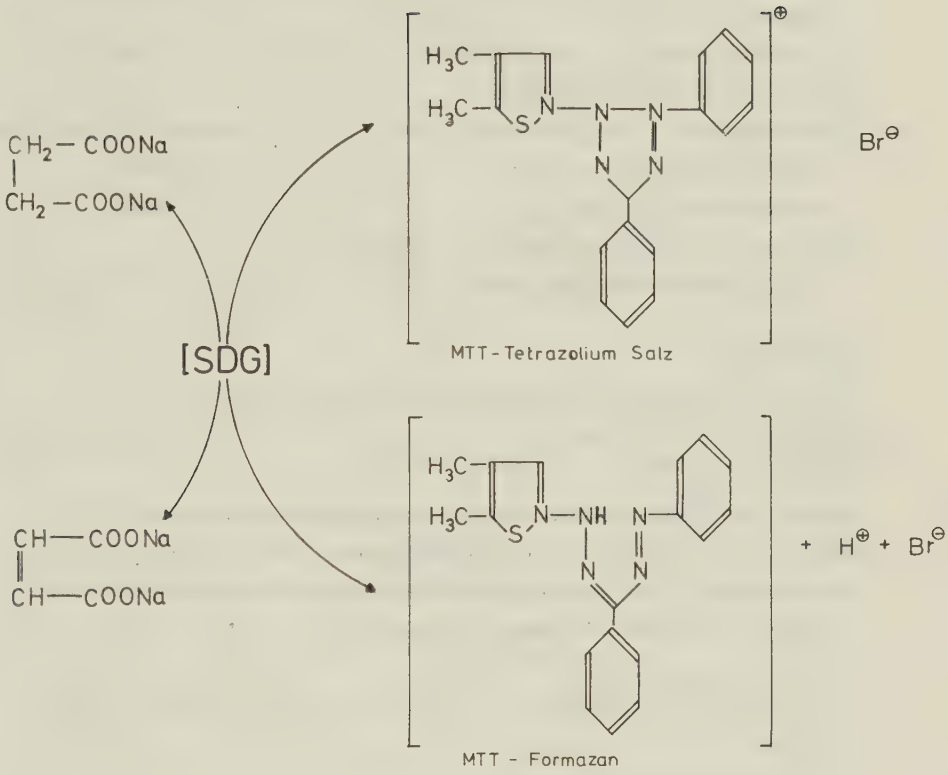
2.2.4. Bernsteinsäuredehydrogenase nach PEARSE

Die histochemische Darstellung der Bernsteinsäuredehydrogenase mit MTT-Bromid als Substrat wurde nach den Angaben von PEARSE, A.G.E. [291] [292] [293], PEARSE, A.G.E. et al. [294], ADAM, A. et al. [1] und BARKA, T. et al. [19] vorgenommen.

Prinzip der Bestimmung

Enzymatische Reduktion des MTT-Tetrazoliumsalzes durch Bernsteinsäure zum MTT-Formazan.

1.) Bestimmunsreaktion: 2.) Indikatorreaktion



Inkubationslösung:

750 mg Polyvinylpyrolidone

2.5 ml 0.2 M TRIS-Puffer pH 6.9

2.5 ml wässrige Lösung von MTT-Bromid[1)]
reinst (S) 1 mg/ml

3.0 ml wässrige Lösung von Natriumsuccinat (M) 570 mg/ml

1.7 ml Destilliertes Wasser

0.3 ml 0.5 M wässrige Kobaltchloridlösung

---

1) MTT-Bromid = 3.-(4.5. Dimethyl-thiazolyl-2.)-2.5.-diphenyl-tetrazoliumbromid

Durchführung der Färbereaktion:

1. Verwendung von unfixierten und nicht getrockneten Kryostatschnitten	
2. Inkubationslösung (frisch angesetzt)	30 Min./37° C
3. Waschen in 1%iger Salzsäure	1 Min.
4. Nachfixation in 10%igem Formalin mit 1%igem Kalziumchloridzusatz	10 Min.
5. Destilliertes Wasser	5 Min.
6. Eindecken in Glyceringelatine nach KAISER mit 1%igem Kobaltazetatzusatz	

Auswertung:

Orte mit enzymatischer Aktivität sind schiefergrau angefärbt.

Kontrolle:

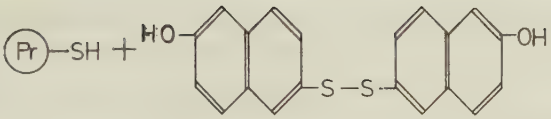
Hemmung der Bernsteinsäuredehydrogenase-Aktivität durch Hitze (75° C Wasserbad für 5 Minuten) oder Inkubationslösung mit Zusatz von 0,01 M Jodessigsäure (= 186 mg/50 ml Inkubationslösung) sowie Inkubation der Schnitte in succinatfreier Inkubationslösung.

2.2.5. Sulfhydrylgruppen

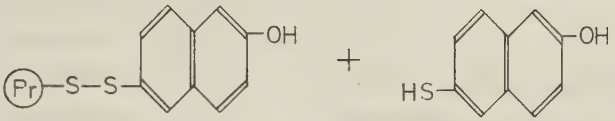
Die histochemische Darstellung der Sulfhydrylgruppen erfolgte nach der von BARNETT, R.J. et al. [20] [21], CARFUNY, E.J. et al. [63] und BAHR, G.F. et al. [16] angegebenen Methode.

Prinzip der Methode

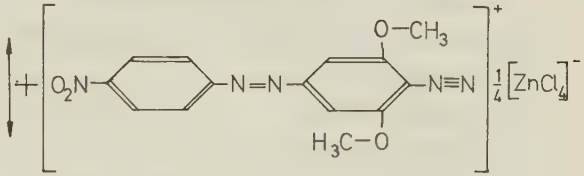
Reduktion des 2.2.-Dihydroxy-6.6.-dinaphthyl-disulfid durch die proteingebundenen SH-Gruppen und Kupplung des entstehenden Produktes mit dem Diazo-Farbstoff Fast black K.



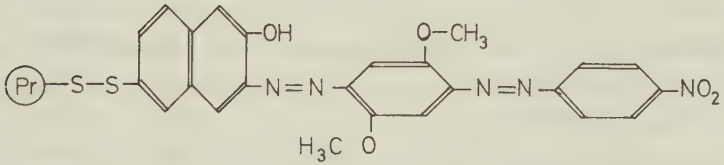
1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Indikatoreaktion:



Fast Black K Salz



Inkubationslösung:

35 ml 0.1 Barbitalnatrium-Salzsäurepuffer[1)]

(nach MICHAELIS) pH 8.5

15 ml Lösung von 1 mg DDD/ml[2)] 100%igem Äthanol

Die beiden Lösungen werden bei 55°-60° C tropfenweise und unter heftigem Rühren gemischt.

---

1) Puffertabellen nach HALLMANN, L. [152]

2) DDD = 2.2. Dihydroxy-6.6-dinaphthyl-disulfid puriss. p.a. (F)

Färbelösung:

Lösung von 1 mg/ml Fast black K, Salz[1], rein (S) in 0.1 M SOERENSEN-Phosphatpuffer pH 7.7[2]

Durchführung der Färbereaktion:

1.	Fixation in Aceton	60 Min./ 4° C
2.	Trocknen	10 Min./25° C
		5 Min./37° C
		5 Min./50° C
3.	Inkubationslösung (frisch hergestellt)	60 Min./60° C
4.	Abkühlen (in der Inkubationslösung)	10 Min./25° C
5.	Abspülen mit destilliertem Wasser	1 Min.
6.	Abspülen mit 0.01%iger Essigsäurelösung	1 Min.
7.	Äthanol 100%ig	5 Min.
8.	Äthanol 100%ig	5 Min.
9.	Äthanol-Äther-Gemisch (1 : 1)	1 Min.
10.	Äther	5 Min.
11.	Äthanol 100%ig	1 Min.
12.	Destilliertes Wasser	1 Min.
13.	Färbelösung (frisch hergestellt)	10 Min.
14.	Destilliertes Wasser	1 Min.
15.	0.1%ige Essigsäure	1 Min.
16.	Destilliertes Wasser	1 Min.
17.	Kernfärbung mit Hämalaun nach MAYER (M)	4 Min.
18.	Fließendes Leitungswasser	20 Min.
19.	Eindecken in Glyceringelatine nach KAISER (M)	

Auswertung:

Orte mit proteingebundenen SH-Gruppen färben sich violett bis braunviolett an.

---

1) Fast black K - Zn Salz
2) Puffertabellen nach BARKA, T. et al. [19]

2.2.6. Histologische Färbung

(0.) Hämatoxilin-Eosin-Färbung

1. für frische Kryostatschnitte

Durchführung der Färbung:

1.	Fixation in Äthanol 100%ig	5 Min./ 4°C
2.	Waschen in destilliertem Wasser	5 Min.
3.	Hämatoxilin nach DELAFIELD	
	1 : 10 verdünnt	15 Min.
4.	Spülen in fließendem Leitungswasser	10 Min.
5.	Erythrosinlösung 1%ig	10 Min.
6.	Destilliertes Wasser	kurz eintauchen
7.	Äthanol 80%ig	kurz eintauchen
8.	Äthanol 100%ig	3 Min.
9.	Xylol I	5 Min.
10.	Xylol II	5 Min.
11.	Eindecken in MALLINOL ^{R} (CH	

2. für Paraffinschnitte

Die Hämatoxilin-Eosin-Färbung der Paraffinschnitte erfolgte nach der üblichen, u.a. bei ADAM, A. et al. [1] angegebenen Technik.

(1.) Trichramfärbung nach MASSON

Die Trichramfärbung nach MASSON wurde nach der von ROMEIS, B. [320] zitierten Technik durchgeführt.

2.3. BIOCHEMISCHE BESTIMMUNGSMETHODEN

2.3.0. Substratbestimmungen

(0.) Aufarbeitung zur Substratbestimmung (nach HOHORST, H.J. et al. [165])

A. Aufarbeitung von Gewebsmaterial für die Substratbestimmung

1. Aus dem narkotisierten lebenden Tier wird mit der Gefrierstoppzange ein Gewebsstück entnommen[1)]
2. Gewebe in flüssigem Stickstoff konservieren
3. Zermahlen des Gewebes in gekühltem Mörser (mit flüssigem Stickstoff((im Kühlraum)
4. Ca. 1 g Organpulver in 5 ml 6%iger Perchlorsäure 5 Min. im Eisbad auf dem Magnetrührer extrahieren
5. 10 Min. bei 10.000 U/min (= 16.000 x g) und 0° C zentrifugieren
6. Überstand aufheben
7. Rückstand mit 10 ml 6%iger Perchlorsäure erneut extrahieren (10 Min. bei 0° C)
8. 10 Min. bei 10.000 U/min. (= 16.000 x g) und 0° C zentrifugieren
9. Titration der vereinigten Überstände mit 10 N KOH auf pH 6.0
10. 10 Min. im Eisbad stehen lassen, danach erneut zentrifugieren (10 Min. bei 10.000 U/min (=16.000 x g) und 0° C)
11. Abgießen des Überstandes und Messung des Volumens desselben; Substratbestimmung im Überstand (bis zur Messung bei -20° C aufbewahren)

B. Aufarbeitung von Vollblut für die Substratbestimmung

1. Nach Entnahme des Nierenanteils für die Substratbestimmung und Ligatur der A. und V. renalis Eröffnung des Thorax des narkotisierten Tieres und Blutentnahme durch Herzpunktion.

---

1) Literatur über die Verwendung von Gefriertoppzange: WOLLENBERGER, A. et al. [416] [417], GOEGGEL, K.H. et al. [138], ERÄNKÖ, O. [107] und GERLACH, E. et al. [134]

2. Zu 10 ml 6%iger Perchlorsäure (eisgekühlt) ca. 5 ml Blut im Strahl unter Schütteln des Gefäßes zufließen lassen.
3. Bei 0^{o} C zweimal 20 Sek. Homogenisieren mit einer dazwischen liegenden Pause von 5 Min.
4. 10 Min. bei 0^{o} C und 10.000 U/min (= 16.000 x g) zentrifugieren.
5. Überstand mit 10 N KOH bei 0^{o} C mit pH-Meter neutralisieren; ein pH von 6.0 soll nicht überschritten werden.
6. 10 Min. im Eisbad stehen lassen.
7. 10 Min. bei 0^{o} C und 15.000 U/min (= 27.000 x g) zentrifugieren
8. Volumen des Überstandes messen und denselben bis zur Substratbestimmung bei -20^{o} C aufbewahren.

(1.) Durchführung und Auswertung der Substratbestimmungen

Sämtliche Substratbestimmungen wurden mit einem Photometer "Eppendorf" 1101 M in Kombination mit einem Elektronischen Kompensationsschreiber 3312 (System Phillips) durchgeführt.

Als Meßwert wurde die Extintionsdifferenz ΔE zwischen dem Reaktionsstart (nach Abwarten des Vorlaufes) und Reaktionsende (keine weitere Extinktionsänderung) ermittelt. Der Substratgehalt wurde auf das Frischgewicht bezogen. Die Berechnung der Substratkonzentrationen im Gewebs- bzw. Vollblutextrakt erfolgte nach:

$$\Delta E \cdot \frac{Vp}{\varepsilon' \cdot d \cdot V_A} \cdot \frac{VE}{Fg} = 10^{-6}\text{M Substrat/g Frischgewicht}$$

oder

$$\Delta E \cdot K_1 \cdot K_2 = 10^{-6}\text{M Substrat/g Frischgewicht}$$

wobei

$$K_1 = \frac{Vp}{\varepsilon' \cdot d \cdot V_A} = \text{Konstante, die für jeden Test spezifisch ist}$$

$$K_2 = \frac{V_E}{Fg} = \text{Konstante, die für jede Probe spezifisch ist.}$$

Dabei ist ε' der mit 10^{-6} multiplizierte Extinktionskoeffizient ε:

für DPNH-abhängige Reaktionen: $\varepsilon = 3.30\ [cm^2/Mol]$

für TPNH-abhängige Reaktionen: $\varepsilon = 3.30\ [cm^2/Mol]$
(gemessen bei $\lambda = 366$ nm)

Die Bestimmung der Substrate wurde innerhalb von 8 Stunden nach der Gewebsentnahme beendet, um eine Zersetzung derselben zu vermeiden. Bis zu Beginn der Bestimmungen wurde der Extrakt bei -20^{o} C eingefroren.

Insgesamt wurde bei den Substratbestimmungen ebenso, wie bei den Enzymbestimmungen, mit den Geräten des "Eppendorf-Mikroliter-Systems" gearbeitet. Die automatischen Pipetten wurden wöchentlich durch gravimetrische Messungen geeicht und zeigten dabei eine gute Konstanz des pipettierten Volumens.

(2.) Adenosintriphosphat [ATP]
Der Adenosintriphosphat-Gehalt sowohl des Gewebsextraktes als auch des Vollblutextraktes wurde nach der von BÜCHER, T. et al. [52] angegebenen und in dem von der Firma BOEHRINGER (Mannheim) gelieferten Testsatz verwerteten Methode bestimmt. Eine genauere Beschreibung des Testes findet sich bei DENNEMANN, H. [82] und THORN, W. et al. [372].

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmunsreaktion:

$$ATP + 3\text{-}PG \xleftarrow{[PGK]} 1.3.\text{-}PGP + ADP$$

2.) Indikatorreaktion:

$$1.3.\text{-}PGP \xleftarrow[[GAPDH]]{NADH_2 \quad NAD} GAP + P_o$$

Reaktions- und Meßbedingungen:

d : 1.0 cm Vp: 3.06 ml

λ : 366 nm t: 25° C

pH: 7,6

Testzusammensetzung:

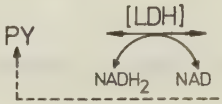
	2.50 ml	TRAP/$MgSO_4$/3-PG	[0.1 M/0.004 M/0.006 M]
	0.05 ml	$NADH_2$	[0.014 M]
	0.50 ml	Gewebs- bzw. Vollblutextrakt	
[S]	0.010 ml	GAPDH/PGK	[4 mg/ml; 1 mg/ml]

(3.) Pyruvat [PY] - Adenosindiphosphat [ADP] - Adenosinmonophosphat [AMP]

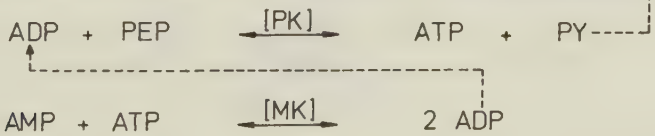
Der kombinierte optische Test, der zur Bestimmung von Pyruvat, Adenosindiphosphat und Adenosinmonophosphat in einem Reaktionsansatz herangezogen wurde, wurde von BÜCHER, T. [48] veröffentlicht. Ein entsprechender Testsatz, der von der Fa. BOEHRINGER (Mannheim) vertrieben wird, wurde verwendet.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungs- und Indikatorreaktion der Pyruvatbestimmung
Indiktorreaktion der ADP- und AMP-Bestimmung



2.) Bestimmugnsreaktion der ADP- und AMP-Bestimmung



Reaktions- und Meßbedingungen:

d :	1.0	Vp (PY) :	2.30 ml
λ :	366 nm	Vp (ADP) :	2.35 ml
pH:	7.6	Vp (AMP):	2.40 ml
t:	25° C		

Testzusammensetzung:

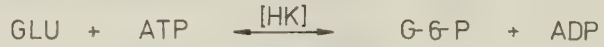
	1.50 ml	Gewebs- bzw. Vollblutextrakt	
	0.50 ml	TRAP/K_2CO_3	[0.43 M/0.55 M]
	0.15 ml	PEP/KCl/$MgSO_4$	[0.01 M/1.3 M/0.4 M]
	0.10 ml	$NADH_2$	[0.009 M]
[S.-PY]	0.05 ml	LDH	[1 mg/ml]
[S.-ADP]	0.05 ml	PK	[1 mg/ml]
[S.-AMP]	0.05 ml	MK	[2 mg/ml]

(4.) Glukose

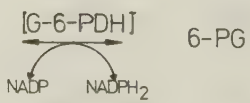
Die Glukose-Bestimmung erfolgte im indirekten optischen Test mit Hexokinase und Glukose-6-phosphatdehydrogenase nach den Angaben von SLEIN, M.W. [351] und KAPLAN, N.O. [175].

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Indikatorreaktion:



Reaktions- und Meßbedingungen:

d : 1.0 cm Vp: 2.82 ml

λ : 366 nm t: 25° C

pH: 7.6

Testzusammensetzung:

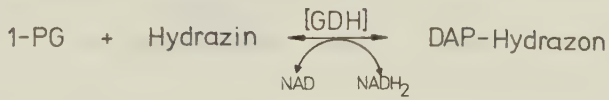
	2.50 ml	TRAP/$MgSO_4$	[0.3 M/4 mM]
	0.10 ml	NADP	[0.012 M]
	0.10 ml	ATP	[0.016 M]
	0.10 ml	Gewebsextrakt	
oder	0.01 ml	Vollblutextrakt	
[S]	0.02 ml	HK/G-6-PDH	[1 mg/ml; 2 mg/ml]

(5.) Glyzerin-1-Phosphat-L(+)-Laktat

Der zusammengesetzte und kombinierte optische Test auf Glyzerin-1-Phosphat und L(+)-Laktat wurde nach der von HOHORST, H.J. et al. [165] angegebenen Methode durchgeführt.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion der Glyzerin-1-phosphat-Bestimmung



2.) Bestimmungsreaktion der L(+)-Laktat-Bestimmung

Reaktions- und Meßbedingungen:

d : 1.0 cm Vp (1-PG): 2.12 ml
λ : 366 nm Vp (LAC) : 2.13 ml
pH: 9.5 t : 25° C

Testzusammensetzung:

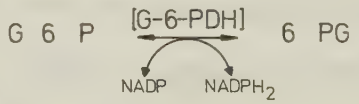
	1.00 ml	Hydrazinsulfat-Glykokollpuffer[1] + AEDT	[0.4 M/1 M/5 mM]
	0.10 ml	NAD	[60 mM]
	0.50 ml	H_2O	
	0.50 ml	Gewebs- bzw. Vollblutextrakt	
[S.-1-PG]	0.20 ml	GDH	[10 mg/ml]
[S.-LAC]	0.20 ml	LDH	[5 mg/ml]

(6.) Glukose-6-phosphat

Die Bestimmung von Glukose-6-phosphat erfolgte nach den Angaben von HOHORST, H.J. et al. [165].

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungs- und Indikatorreaktion:



Reaktions- und Meßbedingungen:

d : 2.0 cm Vp: 2.22 ml
λ : 366 nm t: 25° C
pH: 7.6

---

[1] Puffertabellen in KEIL, B. et al. [185]

Testzusammensetzung:

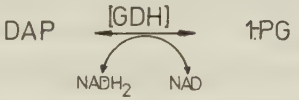
1.00 ml	TRAP / ADTE	[75 mM/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$	[6.6 mM]
0.10 ml	NADP	[4.4 mM]
1.00 ml	Gewebs- bzw. Vollblutextrakt	
[S.] 0.20 ml	G-6-PDH	[1 mg/ml]

(7.) Dihydroxyazetonphosphat - Fruktose-1.6.-diphosphat

Die Bestimmung dieser beiden Stoffe erfolgte im kombinierten, zusammengesetzten optischen Test, wie er von HOHORST, H.J. et al. [165] entwickelt wurde.

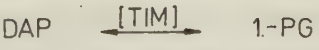
Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungs- und Indikatorreaktion der Dihydroxyazetonphosphat-Bestimmung
Indikatorreaktion der Fruktose-1.6.-diphosphat-Bestimmung



2.) Bestimmungsreaktion der Fruktose-1.6.-diphosphat-Bestimmung

3.) Hilfsreaktion



Reaktions- und Meßbedingungen:

d : 4.0 cm	Vp [DAP]: 2.56 ml
λ : 366 nm	Vp [FDP]: 2.57 ml
pH: 7.6	t : 25° C

Testzusammensetzung:

	1.500 ml	TRAP / ADTE	[75 mM/7.5 mM]
	0.050 ml	$NADH_2$	[3.3. mM]
	1.000 ml	Gewebs- bzw. Vollblutextrakt	
[S.-DAP]	0.010 ml	GDH	[2 mg/ml]
	0.010 ml	TIM	[0.1 mg/ml]
[S.-FDP]	0.005 ml	ALD	[10 mg/ml]

2.3.1. Enzymbestimmungen

(0.) Aufarbeitung zur Enzymbestimmung

A. Aufarbeitung des Gewebsmaterials[1)]

1. Niere entnehmen und in Scheiben schneiden; Nierenrinde abpräparieren und zerkleinern (ca. 1 g/10 ml TRAP pH 7.6, eisgekühlt); Frischgewicht bestimmen.
2. 4 x 30 Sek. mit Pausen von 90 Sek. homogenisieren[2)]. Als Kühlflüssigkeit wurde konzentrierte Kochsalzlösung von -15° C verwendet.
3. 10 Min. bei 15.000 U/min (= 27.000 x g) und 0° C zentrifugieren. Homogenisator in 5 ml TRAP (0° C) spülen.
4. Überstand dekantieren (bei $+4^{\circ}$ C aufbewahren); Rückstand mit 5 ml TRAP erneut 4 x 30 Sek. mit 90 Sek. Pause homogenisieren.
5. Homogenisator mit frischen 5 ml TRAP (0° C) waschen.
6. Alle TRAP-Nierenrindenextrakte und Waschflüssigkeiten vereinigen

---

1) Nach den methodischen Angaben von BERGMEYER, H.U. [26], BONTING, S.L. et al. [39] und SCHMIDT, E. et al. [338].

2) Während eines solchen Vorgehens wird die Temperatur des Homogenates nicht über $+6^{\circ}$ C gesteigert.

und zentrifugieren (10 Min. bei 15.000 U/min (= 27.000 x g) und 0^{o} C).

7. Volumen des Überstandes messen.[1)]

B. Aufarbeitung des Vollblutes

1. Zu 5 ml Zitrat ca. 10 ml Vollblut (durch Herzpunktion gewonnen) zulaufen lassen.
2. 4 x 30 Sek. mit Pausen von 90 Sek. homogenisieren. Kühlflüssigkeit: konzentrierte Kochsalzlösung von -15^{o} C.
3. 10 Min. bei 15.000 U/min (= 27.000 x g) und 0^{o} C zentrifugieren.
4. Volumen des Überstandes messen.

(1.) Durchführung und Auswertung der Enzymbestimmungen[2)]

Alle Enzymaktivitätsbestimmungen wurden mit einem Photometer "Eppendorf" 1101 M mit automatischem, temperiertem Kuvettenwechsler durchgeführt. Angeschlossen war ein elektronischer Kompensationsschreiber 4412 (System Phillips). Die Mehrzahl der Enzymaktivitätsbestimmung erfolgte durch fortlaufende Registrierung. Die alkalische und saure Phosphatase wurde in Form einer Endpunktsbestimmung gemessen.

Zur Rationalisierung des Arbeitsablaufes wurde in eine Probe statt der Substratlösung destilliertes Wasser in gleicher Menge pipettiert. Diese Probe diente der Messung des unspezifischen Vorlaufes. Da die Volumina der Vorlauf-Probe und der eigentlichen Testprobe gleich waren, konnte zur Berechnung die Vorlauf-Extinktionsänderung von der Testlauf-Extinktionsänderung direkt subtrahiert werden.

Zur Kontrolle des optimalen Substratsättigungsbereiches des gemessenen Enzyms wurde bei der 2. Bestimmung (für alle Messungen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt) eine (1 : 2)-Verdünnung des Gewebs- bzw. Vollblutextraktes vorgenommen. Aus diesem mit 2 multiplizierten Wert der Extinktionsänderung und dem Wert der 1. Bestimmung wurde dann der

---

1) Die Enzyme werden bei diesem Vorgehen quantitativ extrahiert; die Messung der Enzymaktivitäten am Überstand sowie dem Gesamthomogenat ergibt die gleichen Werte.

2) Nach den Angaben von BERGMEYER, H. U. [26] und SCHMIDT, E. et al. [337]

Mittelwert der Extinktionsänderung ermittelt. Von diesem Mittelwert wurde der Wert der Extinktionsänderung des Vorlaufes subtrahiert.

Als Bezugsgröße für die Enzymaktivitäten wählten wir das Frischgewicht (des Nierengewebes bzw. Vollblutes). Dies erfolgte deshalb, weil im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis der Proteingehalt der Niere (bezogen auf das Frischgewicht) erheblichen Schwankungen unterworfen ist. Die Erklärung dafür liefert die Proteinurie, größtenteils enzymatisch nicht aktiver Proteine, in unterschiedlichem Ausmaß bei verschiedenen Tieren. So ist der Proteingehalt eine nicht konstante Größe und somit als Bezugsgröße ungeeignet. Das Frischgewicht bleibt dagegen konstant; wie die Trockengewichtsbestimmungen zeigen, findet kein signifikanter Abfall des prozentualen Anteiles des Trockengewichtes am Frischgewicht statt.

Aus der Extinktionsänderung pro Minute berechnet sich die Enzymaktivität (in internationalen Einheiten).

$$\text{Enzymaktivität / g Frischgewicht} =$$

$$\Delta E / \text{min} \cdot \frac{V_p}{\varepsilon' \cdot d \cdot V_A} \cdot \frac{V_E}{Fg} = \Delta E / \text{min} \cdot K_1 \cdot K_2$$

wobei

$$K_1 = \frac{V_p}{\varepsilon' \cdot d \cdot V_A} = \text{Konstante, die für jeden Test spezifisch ist.}$$

$$K_2 = \frac{V_E}{Fg} = \text{Konstante, die für jede Probe spezifisch ist.}$$

Dabei ist $\Delta E / \text{min} = \frac{1}{2} \cdot [\Delta E'_1 / \text{min} + 2 \cdot (\Delta E'_2 / \text{min})] - \Delta E_v / \text{min}$

In der Mehrzahl wurden die Enzymaktivitäten in I.E. [10^{-6} Mol Substratumsatz / min / g Frischgewicht bei 25°C] angegeben. Die Enzymaktivitäten der alkalischen und sauren Phosphatase wurden als BESSEY-LOWRY-Einheiten (bei 37°C gemessen) angegeben.

Vor Beginn der eigentlichen Versuchsserie wurde der in-vitro-Enzymaktivitätsabfall der einzelnen Enzyme untersucht. Dabei ergab sich ein

z.T. sehr schneller Abfall der Enzymaktivitäten in vitro bei Lagerung der Probe bei + 4° C (siehe dazu SCHMIDT, E. et al. [340]). Nach dem unterschiedlich schnellen Abfall der Enzyme in vitro ergab sich die folgende Reihenfolge der Enzymaktivitätsbestimmungen:

TABELLE 5:

Enzym:	Abfall in 6 h post mortem in %	Abfall in 12 h post mortem in %	Bestimmung post mortem beendet in
PGlu M	36	46	1.5 h
FPK	19	37	1.7 h
ADL	14	38	2.0 h
ENO	13	27	2.2 h
MK	11	30	2.4 h
PGi	8	62	2.6 h
ATPase	4	20	2.8 h
HK	-	-	3.0 h
PGK	-	-	3.1 h
PGM	-	-	3.2 h
PK	-	-	3.4 h
LDH	-	-	3.6 h
g-6-PDH	-	-	3.8 h
6-PGH	-	-	4.0 h
GA PDH	-	-	4.2 h
AP	-	-	4.8 h
Sp	-	-	4.8 h

(2.) Enzyme des glykolytischen Abbauweges

(2.0.) Phosphoglucomutase

[α-D-glucose-1.6-diphosphate: α-D-glucose-1-phosphatephosphotransferase (2.7.5.1.)][1) 2)]

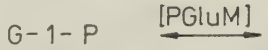
1) Charakterisierung des Enzyms bei NAJJAR, V.A. [275]

2) Systematische Nomenklatur und Zahlenschlüssel nach den Empfehlungen der "Comission on Enzymes of the International Union of Biochemistry" [70]; siehe auch FLORKIN, M. et al. [120]

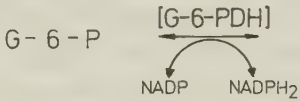
Die Phosphoglucomutase wurde nach der von KLENOW, H. et al. [198] angegebenen Methode bestimmt.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion



2.) Indikatorreaktion



Reaktions- und Meßbedingungen:

d :	1.00 cm	Vp (N):	1.51 ml
λ :	366 nm	Vp (B):	1.43 ml
pH:	7.6	t :	25° C

Testzusammensetzung:[1) 2)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$	[8 mM]	[120 mM]
0.10 ml	NADP	[0.3 mM]	[4.5 mM]
0.10 ml	Cystein[3)]	[10 mM]	[150 mM]
0.01 ml	G-6-PDH	[50 BE/ml]	[8000 BE/ml]
0.10 ml	Gewebsextrakt[4)]		
0,02 ml	Blutextrakt		
[S.] 0.10 ml	G-1-P	[8 mM]	[120 mM]

1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54]

2) Die in den folgenden Angaben über die Testzusammensetzungen gemachten Konzenrationsangaben hinter den Inhaltsstoffen bedeuten in der ersten Spalte die endgültige Konzentration des betreffenden Stoffes in der Testküvette, in der zweiten Spalte die Konzentration des Stoffes in der zu pipettierenden Testlösung.

3) Die Cysteinlösung ist täglich frisch anzusetzen und auf einen pH von 7.6 mit 0.1 N Natriumhydroxydlösung einzustellen.

4) Die Klammer vor den Angaben "Gewebsextrakt" und "Vollblutextrakt"

(2.1.) Hexokinase

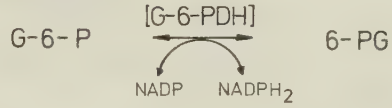
[ATP: D-hexose-6-phosphotransferase (2.7.1.1.)][1)]

Die Aktivität der Hexokinase wurde nach der von SLEIN, M.W. et al. [352] sowie von LÖHR, G.W. et al. [232] angegebenen Methode bestimmt.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:

2) Indikatorreaktion:



Reaktions- und Meßbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.51 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.43 ml
pH:	7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[2)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$	[8 mM]	[120 mM]
0.10 ml	NADP	[0.3 mM]	[4.5 mM]
0.10 ml	ATP	[1,5 mM]	[23 mM]
0.01 ml	G-6-PDH	[50 BE/ml]	[8000 BE/ml]
0.10 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.10 ml	GLU	[10 mM]	[150 mM]

gibt an, daß entweder im Gewebsextrakt oder im Vollblutextrakt die Enzymaktivität bestimmt wurde.

1) Charakterisierung des Enzyms bei CRANE, R.K. [74]

2) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54]

(2.2.) Phosphoglukoseisomerase

[D-glucose-6-phosphate-ketol-isomerase (5.3.1.9.])[1)]

Die Aktivität der Phosphoglukoseisomerase wurde nach der von SLEIN, M.W. [349] [350] ursprünglich für die Phosphomannose-Isomerase-Bestimmung angegebenen Methode bestimmt.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:

$$\text{F-6-P} \xleftrightarrow{[\text{PGI}]} \text{G-6-P}$$

2.) Indikatorreaktion

$$\text{G-6-P} \xrightarrow[\text{NADP} \quad \text{NADPH}_2]{[\text{G-6-PDH}]} \text{6-PG}$$

Reaktions- und Meßbedingungen:

d	1.00 cm	Vp (N) :	1.53 ml
λ	366 nm	Vp (B) :	1.54 ml
pH:	7.6	t :	25° C

Testzusammensetzung:[2)]

	1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
	0.10 ml	NADP	[0.3 mM]	[4.5 mM]
	0.30 ml	H_2O		
	0.02 ml	G-6-PDH	[100 BE/ml]	[8000 BE/ml]
	0.01 ml	Gewebsextrakt		
	0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.]	0.10 ml	F-6-P	[1.6 mM]	[24 mM]

1) Charakterisierung des Enzyms bei TOPPER, Y.J. [380]
2) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54]

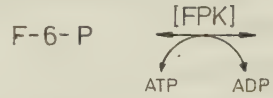
(2.3.) Fruktose-6-phosphatkinase

[ATP: D-fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase (2.7.1.11.)][1)]

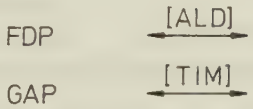
Die Fruktosephosphatkinase wurde nach der von RACKER, E. [309] entwickelten Bestimmungsmethode untersucht.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsrreaktion:



2.) Hilfsreaktionen:



3.) Indikatorreaktion:

Reaktions- und Meßbedingungen:

d	: 1.00 ml	Vp (N)	: 1.48 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.45 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

[1)] Charakterisierung des Enzyms bei LARDY, H. [218]

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$	[8 mM]	[120 mM]
0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
0.10 ml	ATP	[1.5 mM]	[23 mM]
0.01 ml	ALD	[60 BE/ml]	[10000 BE/ml]
0.01 ml	TiM	[80 BE/ml]	[13000 BE/ml]
0.01 ml	GDH	[130 BE/ml]	[20000 BE/ml]
0.05 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.10 ml	F-6-P	[1.6 mM]	[24 mM]

(2.4.) Diphosphofruktose-Aldolase

[Fruktose-1.6.-diphosphate D-glyceraldehyd-3-phosphatlyase (4.2.1.b)][2)]

Die Fruktosediphosphataldolase-Aktivität wurde in der von BACKER, E. [309] angegebenen Weise bestimmt.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:

$$FDP \xleftrightarrow{[ALD]} GAP + DAP$$

2.) Hilfsreaktion:

$$GAP \xleftrightarrow{[TIM]} DAP$$

3.) Indikatorreaktion:

$$DAP \xleftrightarrow[NADH_2 \quad NAD]{[GDH]} 1\text{-}PG$$

1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54], HOLZER, H. et al. [168], VOGELL, W. et al. [386] und LING, K.H. et al. [231]

2) Charakterisierung des Enzyms bei RUTTER, W.J. [325]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.51 ml
λ	: 366 nM	Vp (B)	: 1.43 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

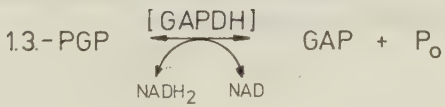
	1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
	0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
	0.20 ml	H_2O		
	0.005 ml	TiM	[40 BE/ml]	[13000 BE/ml]
	0.005 ml	GDH	[65 BE/ml]	[20000 BE/ml]
	0.10 ml	Gewebsextrakt		
	0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.]	0.10 ml	FDP	[4 mM]	[60 mM]

(2.5.) Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase [D-glyceraldehyde-3-phosphate: NAD oxydoreductase (phosphorylating) (1.2.1.126)][2)]

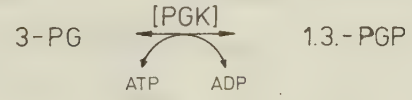
Die Bestimmung der Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase erfolgte nach der von BÜCHER, Th. [48] angegebenen Technik.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungs- und Indikatorreaktion:



2.) Hilfsreaktion:



1) Modifziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54], BEISENHERZ, G. et al. [25], TAYLOR, J.F. et al. [364], BARANOWSKI, T. et al. [17] und BECK, W.S. [24]

2) Charakterisierung des Enzyms bei VELICK, S.F. et al. [384]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.52 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.53 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4/(N_2H_6)SO_4$	[3.3/1.2 mM]	[49/18 mM]
0.10 ml	GSH	[2.4 mM]	[36 mM]
0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
0.10 ml	ATP	[1.5 mM]	[23 mM]
0.01 ml	PGK	[220 BE/ml]	[33000 BE/ml]
0.01 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.10 ml	3-PG	[7 mM]	[105 mM]

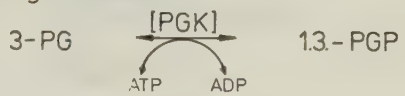
(2.6.) Phosphoglyzeratkinase

[ATP: 3-phospho-D-glycerate-1-phosphotransferase (2.7.2.3.)][2)]

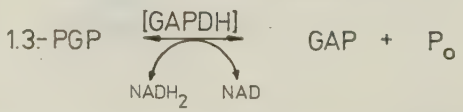
Die Bestimmung der Phosphoglyzeratkinase-Aktivität erfolgte nach der von BÜCHER, Th. [48] angegebenen Technik.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Indikatorreaktion:



---

1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54], DELBRÜCK, A. et al. [80] und BEISENHERZ, G. et al. [25]

2) Charakterisierung des Enzyms bei MALMSTRÖM, B.G. et al. [239]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.52 ml
λ	: 366 nM	Vp (B)	: 1.53 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$	[6.6 mM]	[99 mM]
0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
0.10 ml	GSH	[2.4 mM]	[36 mM]
0.10 ml	ATP	[1.5 mM]	[23 mM]
0.01 ml	GAPDH	[125 BE/ml]	[20000 BE/ml]
0.01 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.10 ml	3-PG	[70 mM]	[1050 mM]

(2.7.) Phosphoglyzeratmutase

[2.4. diphospho-D-glyzerate: 2-phospho-D-glycerate-phosphotransferase (2.7.5.3.)][2)]

Die Bestimmung der Phosphoglyzeratmutase-Aktivität wurde nach der von SUTHERLAND, E.W. et al. [362] veröffentlichten Methode vorgenommen.

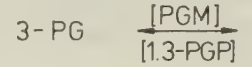
---

1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54], BEISENHERZ, G. et al. [25] und VOGELL, W. et al. [386]

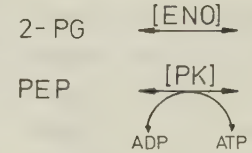
2) Charakterisierung des Enzyms bei PIZER, L.J. [302]

Prinzip der Bestimmung:

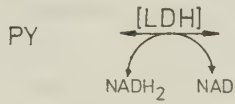
1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Hilfsreaktionen



3.) Indikatorreaktion:



Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.48 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.43 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$/KCl	[8/75 mM]	[120/1125 mM]
0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
0.10 ml	ADP	[1 mM]	[15 mM]
0.01 ml	ENO	[50 BE/ml]	[7500 BE/ml]
0.01 ml	PK	[115 BE/ml]	[17500 BE/ml]
0.01 ml	LDH	[125 BE/ml]	[20000 BE/ml]
0.05 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.10 ml	PGP/3 PG	[0.5/7 mM]	[7.5/105 mM]

[1)] Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54] und VOGELL, W. et al. [386]

(2.8.) Enolase

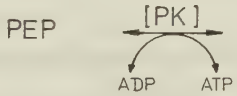
[2-phospho-D-glycerate hydro-lyase (4.2.1.11)][1)]

Die Enolase-Aktivität wurde nach der von WARBURG, O. et al. (1941) [400] angegebenen Methode bestimmt.

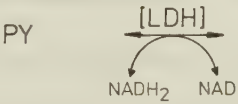
Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion

2.) Hilfsreaktion:



3.) Indikatorreaktion:



Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.515 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.435 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

1) Charakterisierung des Enzyms durch MALMSTRÖM, B.G. [240]

Testzusammensetzung:[1)]

	1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
	0.10 ml	$MgSO_4$/KCl	[8/75 mM]	[120/1125 mM]
	0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
	0.10 ml	ADP	[1.0 mM]	[15 mM]
	0.005 ml	PK	[60 BE/ml]	[17500 BE/ml]
	0.01 ml	LDH	[125 BE/ml]	[20000 BE/ml]
	0.10 ml	Gewebsextrakt		
	0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.]	0.10 ml	2-PG	[1 mM]	[15 mM]

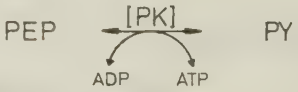
(2.9.) Pyruvatkinase

[ATP-pyruvate-phosphotransferase (2.7.1.40.)][2)]

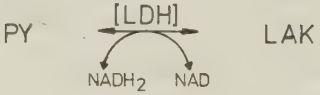
Die Bestimmung der Pyruvatkinase-Aktivität wurde nach dem von KUBOWITZ, F. et al. [206] veröffentlichten Testansatz vorgenommen.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Indikatorreaktion:



1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54] und BÜCHER, Th. [49]

2) Charakterisierung des Enzyms bei BOYER, P.D. [41]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	VP (N)	: 1.505 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.425 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

	1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
	0.10 ml	$MgSO_4$/KCl	[8/75 mM]	[120/1125 mM]
	0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
	0.10 ml	ADP	[1.5 mM]	[23 mM]
	0.005 ml	LDH	[60 BE/ml]	[20000 BE/ml]
	0.10 ml	Gewebsextrakt		
	0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.]	0.10 ml	PEP	[5 mM]	[75 mM]

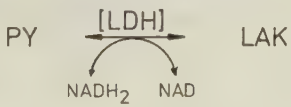
(2.10.) Laktatdehydrogenase

[L.-lactate : NAD oxydoreductase (1.1.1.27.)][2)]

Die Laktatdehydrogenase-Aktivität wurde nach der von KUBOWITZ, T. et al. [207] angegebenen Methode analysiert.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungs- und Indikatorreaktion:



1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54] und BÜCHER, Th. et al. [51]

2) Charakterisierung des Enzyms bei SCHWERT, G.W. et al. [344]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.51 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.52 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
0.20 ml	H_2O		
0.01 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.20 ml	PY	[2.4 mM]	[18 mM]

(3.) Enzyme des Pentosephosphatweges

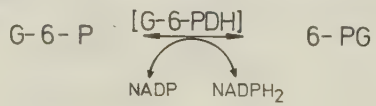
(3.0.) Glukose-6-phosphatdehydrogenase

[D-glucose-6-phosphate: NADP oxydoreductase (1.1.1.49.)][2)]

Die Bestimmung der Glukose-6-phosphatdehydrogenase-Aktivität erfolgt nach der von WARBURG, O. et al. [397] angegebenen Methode.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungs- und Indikatorreaktion



1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54] und PFLEIDERER, G. et al. [298a]

2) Charakterisierung des Enzyms bei NOLTMANN, E.A. et al. [280]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.500 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.420 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	NADP	[0.3 mM]	[4.5 mM]
0.10 ml	H_2O		
0.10 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.20 ml	G-6-P	[2 mM]	[15 mM]

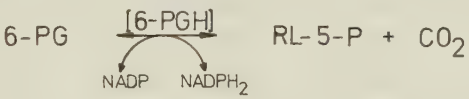
(3.1.) 6-Phosphogluconatdehydrogenase

[6-phospho-D-gluconate : NADP oxydoreductase (decarboxylating) (1.1.1.44.)][2)]

Die Aktivität der 6-Phosphogluconatdehydrogenase wurde nach den Angaben von HORECKER, B.L. et al. [168a] bestimmt.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungs- und Indikatorreaktion



1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54], WARBURG, O. et al. [398] [399] und KORNBERG, A. et al. [200]
2) Charakterisierung des Enzyms bei NOLTMANN, E.A. et al. [280]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.50 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.42 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAT / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$	[8 mM]	[120 mM]
0.10 ml	NADP	[0.3 mM]	[4.5 mM]
0.10 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.20 ml	6-PG	[1 mM]	[7.5 mM]

(4.) Enzyme aus dem Phosphatstoffwechsel

(4.0.) Myokinase

[ATP : AMP phosphotransferase (2.7.4.3.)][2)]

Die Bestimmung der Myokinase-Aktivität erfolgte nach den Angaben von COLOWICK, S.P. et al. [68].

---

1) Modifiziert nach den Angaben von BÜCHER, Th. et al. [54] und DELBRÜCK, A. et al. [80]

2) Charakterisierung des Enzyms bei NODA, L. [279]

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:

$$ATP + AMP \xleftrightarrow{[MK]} 2\ ADP$$

2.) Hilfsreaktion:

$$PEP \xrightarrow[ADP \quad ATP]{[PK]} PY$$

3.) Indikatorreaktion:

$$PY \xrightarrow[NADH_2 \quad NAD]{[LDH]} LAK$$

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N) :	1.425 ml
λ	: 366 nm	Vp (B) :	1.435 ml
pH :	7.6		25° C

Testzusammensetzung:

	1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
	0.10 ml	$MgCl_2$/KCl	[8/75 mM]	[120/1125 mM]
	0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
	0.05 ml	AMP	[1.6 mM]	[48 mM]
	0.05 ml	PEP	[0.5 mM]	[15 mM]
	0.01 ml	LDH	[670 BE/ml]	[100000 BE/ml]
	0.005 ml	PK	[260 BE/ml]	[70000 BE/ml]
	0.01 ml	Gewebsextrakt		
	0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.]	0.10 ml	ATP	[1,5 mM]	[23 mM]

(4.1.) Mg^{++}-abhängige Adenosintriphosphatase
[ATP-phosphohydrolase (3.6.1.4.)][1)]

Die ATPase-Aktivität wurde nach der von SIEBERT, G. [346] sowie FISCHER, F. et al. [117] angegebenen Methode gemessen.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:

$$ATP \xrightarrow[[Mg^{2+}]]{[ATPase]} ADP + P_o$$

2.) Hilfsreaktion:

$$PEP \xrightarrow{[PK]} PY \quad (ADP \rightarrow ATP)$$

3.) Indikatorreaktion:

$$PY \xrightarrow{[LDH]} LAC \quad (NADH_2 \rightarrow NAD)$$

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d	: 1.00 cm	Vp (N)	: 1.48 ml
λ	: 366 nm	Vp (B)	: 1.49 ml
pH	: 7.6	t	: 25° C

1) Charakterisierung des Enzyms bei KIELLEY, W.W. [187]

Testzusammensetzung:[1)]

1.00 ml	TRAP / ADTE	[50/5 mM]	[75/7.5 mM]
0.10 ml	$MgSO_4$/KCl	[8/75 mM]	[120/1125 mM]
0.10 ml	$NADH_2$	[0.22 mM]	[3.3 mM]
0.10 ml	PEP	[1 mM]	[15 mM]
0.05 ml	H_2O		
0.01 ml	PK	[10 BE/ml]	[14000 BE/ml]
0.01 ml	LDH	[670 BE/ml]	[100000 BE/ml]
0.01 ml	Gewebsextrakt		
0.02 ml	Vollblutextrakt		
[S.] 0.10 ml	ATP	[1.5 mM]	[23 mM]

(4.2.) Alkalische Phosphatase

[Orthophosphoric monoester phosphohydrolase (3.1.3.1.)][2)]

Die alkalische Phosphatase wurde nach dem von BESSEY, O.A. et al. [27] entwickelten Farbstofftest bestimmt; die Reagenzlösungen wurden dem von der Firma C.F. BOEHRINGER + SOEHNE GmbH Mannheim gelieferten Testsatz entnommen.

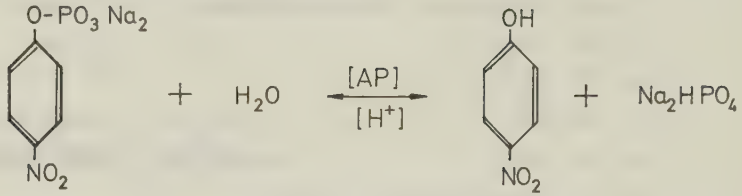
---

1) Modifiziert nach den Angaben von FRITZ, P.J. et al. [126], SKOU, J.C. [348] und HOLZER, H. et al. [168]

2) Charakterisierung des Enzyms bei SCHMIDT, G. et al. [343] und STADTMANN, Th. C. [356]

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Indikatorreaktion:

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d : 1.00 cm t : 37° C

λ : 405 nm ε^+ : 0.308 cm^2/mM

pH : 10.5

Testzusammensetzung:

	1.00 ml	Glyzerin-Puffer/$MgCl_2$ [50 mM/0.5 mM/5.5 mM] Na-NPP
Enzym-reaktion:	0.10 ml	Gewebsextrakt 1 : 10 verdünnt
	0.10 ml	Vollblutextrakt 1 : 10 verdünnt
	30 Min. bei 37° C inkubieren, dann im Kühlbad auf 0° C abkühlen.	
Färbe-reaktion:	0.20 ml	Inkubationsgemisch der Enzymreaktion
	1.82 ml	NaOH [20 mM]

Photometrie bei 405 nm gegen Leerwert (zu dem Leerwert wird der Gewebsextrakt bzw. Vollblutextrakt erst nach der Inkubation der Enzymreaktion einpipettiert).

Berechnung:

$\Delta E/min$ ergibt sich aus der gemessenen Extinktion dividiert durch 30. Der Extinktionskoeffizient ε^+ für p-Nitrophenylphosphat beträgt 0.308. Die berechneten Werte geben die Enzymaktivität in mMol-Einheiten (BESSEY-LOWRY) an. Ansonsten wird entsprechend der Gleichungen in Abschnitt 2.3.1. (1.) verfahren.

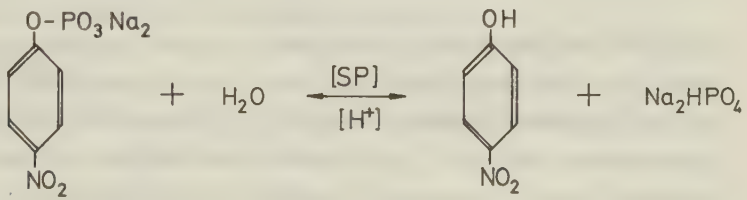
(4.3.) Saure Phosphatase

[Orthophosphoric monoester phosphohydrolase (3.1.3.2.)][1)]

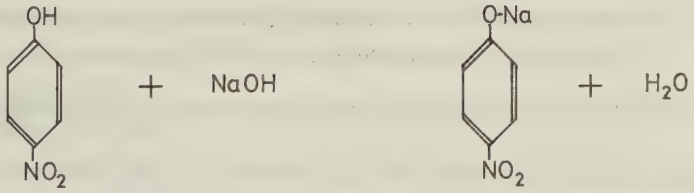
Die Aktivität der sauren Phosphatase wurde nach ANDERSCH, M.A. et al. [5] analysiert. Die Reagenzlösungen wurden dem von der Firma C.F. BOEHRINGER + Söhne GmbH Mannheim gelieferten Testsatz entnommen.

Prinzip der Bestimmung:

1.) Bestimmungsreaktion:



2.) Indikatorreaktion



1) Charakterisierung des Enzyms bei SCHMIDT, G. [342]

Meß- und Reaktionsbedingungen:

d : 1.00 cm t : 37° C

λ : 405 nm ε^+ : 0.308 cm^2/mM

pH : 4.8

Testzusammensetzung:[1)]

Enzym-	1.00 ml	Zitratpuffer / NaNPP	[50/5.5 mM]
reaktion:	0.20 ml	Gewebsextrakt	(unverdünnt)
	0.20 ml	Vollblutextrakt	(1 : 10 verdünnt)

30 Min. bei 37° C inkubieren und dann im Kühlbad auf 0° C abkühlen.

Farb-	0.20 ml	Inkubationsgemisch der Enzymreaktion	
reaktion:	1.66 ml	NaOH	[20 mM]

Photometrie bei 405 nm gegen Leerwert

[siehe 2.3.1. (4.2.)]

Berechnung siehe 2.3.1. (4.2.)

2.3.2. Nukleinsäurebestimmungen

Die Nukleinsäuren, Desoxyribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS), wurden in einem Arbeitsgang entsprechend den Angaben von OGUR, M. et al. [285] sowie FISCHER, F.G. et al. [118] getrennt aus dem Nierenrindengewebe extrahiert. (Im Vollblut wurden die DNS und RNS nicht bestimmt). Dabei wurde nach der folgenden Vorschrift verfahren:

1. Materialaufarbeitung entsprechend den Angaben bei den Substratbestimmungen (mit Gefrierstoppzange entnommenes und im Mörser pulverisiertes Nierenrindengewebe; siehe Abschnitt 2.3.0. (0.)).
2. Ungefähr 100 - 200 mg Nierenrindengewebe in 10 ml 95%igem Äthanol

---

[1)] Modifiziert nach den Angaben von RATT, O. E.

im Eisbad rühren (15 Min.); bei 15.000 U/min (= 27.000 x g) 10 Min. zentrifugieren.

3. Rückstand mit 5 ml 70%igem Äthanol / 0.1%igem Perchlorsäure-Gemisch 5 Min. im Eisbad extrahieren. 10 Min. bei 15.000 U/min (= 27.000 x g) zentrifugieren.

4. Rückstand mit 10 ml Äther-Äthanol-Gemisch (3 : 1) 10 Min. im Wasserbad bei 100° C extrahieren. 10 Min. bei 15.000 U/min (= 27.000 x g) zentrifugieren.

5. Erneute Extraktion wie bei 4.)

6. Rückstand mit 5 ml 2%iger Perchlorsäure im Eisbad 10 Min. unter ständigem Rühren extrahieren. 10 Min. bei 15.000 U/min (= 27.000 x g) zentrifugieren.

7. Erneute Extraktion wie bei 6.)

8. RNS-Extraktion:

   Rückstand dreimal mit 10%iger Perchlorsäure extrahieren bei + 4° C

   1. 5 ml 10% $HClO_4$: 12 Stunden
   2. 5 ml 10% $HClO_4$: 30 Min.
   3. 5 ml 10% $HClO_4$: 30 Min.

   Überstände vereinigen. Extraktvolumen messen.

9. DNS-Extraktion:

   Rückstand bei 75° C zweimal mit 10%iger Perchlorsäure extrahieren

   1. 10 ml 10% $HClO_4$: 15 Min.
   2. 10 ml 10% $HClO_4$: 15 Min.

   Überstände vereinigen. Extraktvolumen messen.

10. DNS-RNS-Bestimmung [nach TSUBOI, K.K. [382]]

    Spektralphotometrische[1] DNS- und RNS-Bestimmung bei λ:

    DNS : 265 nm

    RNS : 260 nm

    Eichkurven wurden vorher angelegt mit DNS reinst aus Kälberthymus (S); RNS p.A. aus Hefe (S).

---

[1] Spektralphotometer "ZEISS" PMQ 2

2.3.3. BESTIMMUNG harnpflichter Substanzen

Zur Bestimmung der harnpflichtigen Substanzen: Harnstoff, Kreatinin und Phosphat wurde der TECHNICON ^{R} Autoanalyzer ^{R} eingesetzt.

(0.) Harnstoff

Die Bestimmung des Hanrstoffs beruht auf einer Modifikation der Carbamido-diacetyl-Reaktion. Diese besteht in der direkten Reaktion von Harnstoff mit Diacetyl-monoxim in der Gegenwart von Thiosemicarbazid im sauren Milieu. Die Extinktion des farbigen Reaktionsproduktes wird in einer Durchflußküvette gemessen (λ = 520 nm, d = 1.50 cm). [1)]

(1.) Kreatinin

Die Bestimmung des Kreatinins beruht auf der FOLIN-Reaktion, bei der Kreatinin und Pikrinsäure im alkalischen Milieu einen roten Farbstoff bilden, dessen Extinktion bei 505 nm in einer Durchflußküvette (d = 1.50 cm) gemessen wird. [2)]

(2.) Anorganisches Phosphat

Die Bestimmung des anorganischen Phosphates beruht auf der Reaktion von anorganischem Phosphat mit Molybdänsäure. Die sich bildende plymere Phosphormolybdänsäure wird mit einem Gemisch von Zinn-II-chlorid und Hydrazinsulfat zu Molybdänblau reduziert. Die Extinktion wird in einer Durchflußküvette (d = 1.50 cm) bei λ = 660 nm gemessen. [3)]

---

1) Vgl. dazu TECHNICON Auto-Anylzer Methodology, Method file N-1c [12] sowie MARSH, W.H. et al. [242]
2) TECHNICON Auto-Analyzer Methodology, Method file N-11b [12]
3) Vgl. dazu TECHNICON Auto-Analyzer Methodology, Method file N-4c [12] KRAML, M. [203], sowie HURST, R.O. [170]

2.4. URINUNTERSUCHUNGEN

Der Ursin der Kaninchen wurde mittels Teststreifen halbquantitativ auf die folgenden Stoffe untersucht:[1)]

1. Eiweiß : Albustix^{R} (A/M)
2. Glukose : Glukotest^{R} (B)
3. Hämoglobin : Helgotix^{R} (A/M)
4. H^{+}-Ionen : pH-Indikatorpapier (M).

Zudem wurde das Urinsediment entsprechend der üblichen klinisch-chemischen Untersuchungsmethodik untersucht (Auszählen des unverdünnten, nicht zentrifugierten Spontanurins in der FUCHS-ROSENTHAL-Kammer).

2.5. SONSTIGE BESTIMMUNGEN

2.5.0. Blutbild

Es wurden Erythrozyten-, Reticulozyten-, Leukozyten- und Eosinophilenzählungen sowie ein Differentialblutbild mit panoptischer Färbung nach PAPPENHEIM und Hämoglobinbestimmungen entsprechend der üblichen, klinisch-chemischen Routinetechnik durchgeführt.
Zudem erfolgte die histochemische Färbung eines Blutausstriches auf alkalische Leukozytenphosphatase nach der von HALLMANN, L. [152] angegebenen Methodik. [Prinzip der histochemischen Darstellung siehe Abschnitt 2.2.1. (0.) und 2.2.2. (0.)].

Inkubationslösung:

50 ml 0.1 M TRIS-Puffer pH 9.2
100 mg α-Naphthylphosphat, Na-Salz p.a. (S)
50 mg Fast GARNET GBC, Salz, rein (S)
Inkubationslösung filtrieren.

1.	Frische Ausstriche ca. 10 Min. trocknen lassen.	
2.	Fixation in Formalin (4%)-Methylalkohol (90%)-Gemisch	30 Sek/4° C
3.	Spülen mit destilliertem Wasser	1 Min.
4.	Inkubationslösung (frisch angesetzt)	10 Min/25° C
5.	Spülen mit destilliertem Wasser	1 Min.
6.	Kerngegenfärbung mit Lithiumcarmin nach ORTH	20 Min.
7.	Differenzieren in 70%igem Äthanol mit 1%igem Salzsäuregehalt	15 Min.
8.	Spülen mit destilliertem Wasser und Trocknen der Ausstriche	3 Min.

---

[1] Über die halbquantitative Schnelluntersuchung mit Teststreifen siehe KUTTER, D. [210]

2.5.1. Proteinbestimmung

Die Proteinbestimmung im Gewebs- und Vollblutextrakt wurde nach der von BÜCHER, Th. [47] entwickelten Methode vorgenommen.

Reagenzlösung:

100 ml 1% Ammoniumsulfatlösung
50 ml 3 M Trichloressigsäurelösung
mischen und bei +4° C lagern (Haltbarkeit maximal 2 Monate)

Testzusammensetzung:

Probe: 1.0 ml (Gewebsextrakt 1 : 100 verdünnt)
(Vollblutextrakt 1 : 1000 verdünnt)
2.0 ml Reagenzlösung
Vorsichtig mischen und 20 Min. stehen lassen.

Leerwert: 1.0 ml TRAP / ADTE [75/7.5 mM] pH 7.6
2.0 ml Reagenzlösung
weitere Behandlung wie "Probe".

Nach 20 Min. Extinktionsmessung der Probe gegen Leerwert bei 546 nm; d = 1 cm.

Zur quantitativen Auswertung ist die Aufstellung einer Eichkurve aus einer Lösung von 50,0 mg Albumin p.a. (S) in 100 ml TRAP-Puffer pH 7.6 (das entspricht einer Proteinkonzentration von 50 γ/0.1 ml) nötig.

Berechnung:

Der Proteingehalt der Probe ergibt sich aus:

$$Pg = \frac{E \cdot 100 \cdot V_E}{E' \cdot \text{Verdünnung} \cdot Fg \cdot 10^{-6}} \quad [\text{g Protein/g Frischgew.}]$$

wobe E' die aus der Eichkurve zu entnehmende Extinktion für einen Proteingehalt von 100 γ/ml darstellt.

2.6. DURCHFÜHRUNG DES TIEREXPERIMENTES

Nach intravenöser Narkose der Kaninchen mit ca. 1 ml/kg 5-[2-Bromallyl]-5'-butylbarbitursäure (PERNOCTON ^{R}) wurde das Abdomen längs, im Verlauf der Linea alba, und quer durch beidseitiges Durchtrennen der Bauchdeckenmuskulatur eröffnet. Dadurch wurde eine einfache und ausgiebige Darstellung beider Nieren erreicht. Dieselben wurden freipräpariert und die linke Niere mit dem längeren Gefäßpol mit einer offenen Klemme angehoben. Aus dieser wurden für die Substratbestimmungen mit einer in flüssigem Stickstoff auf -196^{o} C vorgekühlten Gefrierstoppzange ca. 1,5 - 2 g Nierenrindengewebe gewonnen und sofort in das Gefäß mit dem flüssigen Stickstoff getaucht. Daran anschließend erfolgte das Abklemmen der Nierengefäße. Danach wurde die rechte Niere exstirpiert, in Scheiben geschnitten und Nierenrindengewebe für die Enzymbestimmungen sowie die histochemische und histologische Untersuchung präpariert. Anschließend wurde der Thorax des Kaninchens eröffnet und durch Herzpunktion Blut für die biochemischen Untersuchungen gewonnen.

2.7. STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Für alle Gruppen wurden berechnet:

1. Mittelwert[1)]

$$\bar{x} = \frac{\Sigma x_i}{n}$$

2. Standardabweichung[1)]

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \left[\Sigma_{x_i} \cdot 2 - \frac{1}{n} (\Sigma_{x_i})^2\right]}$$

3. Streuung des Mittelwertes[1)]

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Zur Prüfung der Gleichheit der Stichprobenvarianzen wurde der F-Test[2)] durchgeführt

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad \text{wobei} \quad s_2^2 < s_1^2$$

[Sicherheitspunkte für das Varianzverhältnis: 1%]

Bei Gleichheit der Stichprobenvarianzen wurde zur Feststellung einer signifikanten Änderung der t-Test durchgeführt[3)]

$$t = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) \cdot \frac{1}{s_D}$$

dabei ist

$$\frac{1}{s_D} = \sqrt{\frac{(n_1 \cdot n_2)\ (n_1+n_2-2)}{(n_1+n_2)\ (Q_1+Q_2)}}$$

---

1) KREYSZIG, E. [205]
2) CAVALLI-SFORZA, L. [64]
3) KREYSZIG, E. [205]

mit

$$Q = \Sigma_{x_i}{}^2 - \frac{1}{n}(\Sigma_{x_i})^2$$

signifikanzschranke $P(2\alpha) = 0.10$ (bzw. $P(\alpha) = 0.05$)[1)]

Bei Ungleichheit der Stichprobenvarianzen wurde zur Feststellung einer signifikanten Änderung ein Zentralwertvergleich (2 x 2 Tafeln) mit ausschließendem FISHER-YATES-Test vorgenommen[2) 3) 4)]

2 x 2 Tafeln:

$$a+b+c+d = n_2+n_2 = ng$$

Y	X		Σ
	Merkmal A	Merkmal Nicht A	
Merkmal B	a	b	a+b
Merkmal Nicht B	c	d	c+d
Σ	a+c	b+d	ng

Dabei bedeutet:

Merkmal A: Enzym- bzw. Substratgehalt größer als der Zentralwert.
Merkmal Nicht A: Enzym- bzw. Substratgehalt kleiner als der Z.-Wert.

Merkmal B: Stichprobe mit Glomerulonephritis.
Merkmal Nicht B: Stichprobe ohne Glomerulonephritis (Normaltiere).

Der Zentralwert ist der Stichprobenwert, der bei, der Größe nach geordneten Werten, der Stichproben n_1 (Normaltiere) und n_2 (kranke Tiere) und ungerader Zahl des Stichprobenumfangs (n_1+n_2) genau in der Mitte steht.

$P(\alpha)$ errechnet sich dann nach:

$$P(\alpha) = \frac{n_w! \cdot n_x! \cdot n_y! \cdot n_z!}{n_g!} \cdot \frac{1}{a! \cdot b! \cdot c! \cdot d!}$$

---

1) Dokumenta-Geigy, Wissenschaftliche Tabellen [130]
2) WEBER, E. [401]
3) GRAF, E. et al. [143]
4) LIEBERMANN, G.J. et al. [223]

wobei $n_w = a+b$

$n_x = c+d$

$n_y = a+c$

$n_z = b+d$

Signifikanzschranke $P(\alpha) : 0.05$

$P(2\alpha) : 0.10$

3. ERGEBNISSE

3.0. ERGEBNISSE DER HISTOCHEMISCHEN UND HISTOLOGISCHEN UNTERSUCHUNGEN

3.0.0. Alkalische Phosphatase

Verteilung in der normalen Kaninchenniere

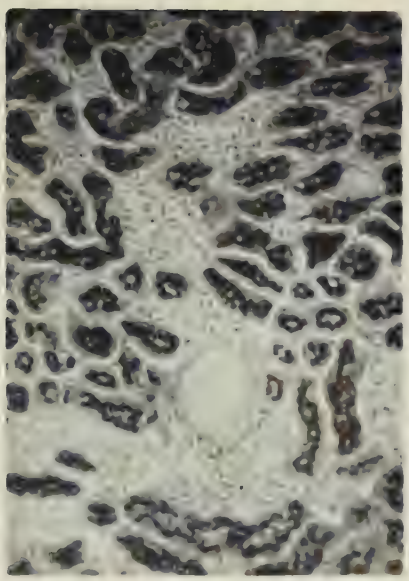
Die enzymhistochemische Darstellung der alkalischen Phosphatase mit Natrium-β-glyzerophosphat oder mit α-Naphthylphosphat als Substrat ergibt eine gleichartige selektive Darstellung der Hauptstücke[1) 2)] in ihrem ge-

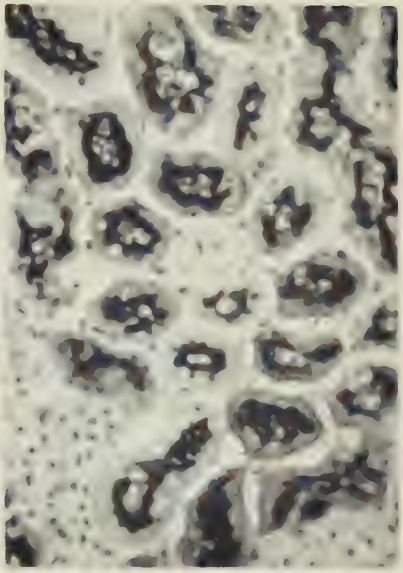
---

1) Gegenüberstellung verschiedener Nomenklaturen

Nierenkörperchen	Glomerulum	
Hauptstück	Portio princip.	Tub. cont. prox. / Tub. I Ord.
gewundener Teil	pars convoluta	pars prox.
gerader Teil	pars recta	pars dist.
abst.	pars desc.	
Teil d. Überleitungsstücks	Portio conducens	dünnes Sgmt.
aufst.	pars asc.	
Mittelstück	Portio intermedia	Tub. cont. dist. / Tub. II Ord.
gewundener Teil	pars convoluta	
Verbindungsstück	Portio reuniens	
Sammelrohr		

2) Die Aktivität stellt sich bei Natrium-β-glyzerophosphat als diffuse Schwärzung dar, während sie sich bei α-Naphthylphosphat als Substrat als granuliert erweist.





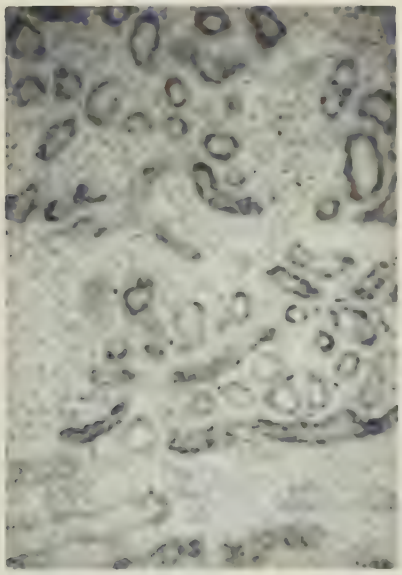


Abb. 2: Normale Nierenrinde Abb. 3: Normale Nierenrinde
Abb. 4: 4. Tag Nierenrinde

samten Verlauf; sie betrifft also sowohl die pars recta als auch die pars convoluta des Tubulus contortus proximalis (Abb. 2 u. 3).

Die maximale Präzipitation findet sich dabei am Beginn der Henle'schen Schleife[1], d.h. der pars recta der Hauptstücke in der Außenzone des Marks.

Zytologisch zeigt sich im Tubulusepithel die folgende Verteilung: der größte Anteil der Enzymaktivität findet sich im sogenannten Bürstensaum der Epithelzellen. Dieser entspricht elektronenoptisch den Mikrovilli mit ihren Invaginationen. Eine weit geringere Menge des Enzyms ist diffus im Zytoplasma verteilt. Die Zellkerne zeigen keine enzymatische Aktivität der alkalischen Phosphatase.

Die übrigen Teile des Nephrons (Glomerulum[2], Mittelstück, Überleitungsstück und Sammelrohr), die Blutgefäße, die Kapillarendothelien und das interstitielle Bindegewebe zeigen keine enzymhistochemische Anfärbung; sie sind im Rahmen der Empfindlichkeit der Methode frei von unspezifischer alkalischer Phosphatase (Abb. 2 u. 3).

---

1) Die Henle'sche Schleife umfaßt:

Pars recta des Hauptstückes,
Überleitungsstück - pars asc. und pars desc.,
Pars recta des Mittelstückes.

Es stellt also keine mikroskopisch anatomische Einheit dar. Teilweise wird in der Literatur auch nur das Überleitungsstück als Henle'sche Schleife bezeichnet.

2) im engl. Schrifttum häufig sprachlich unkorrekt als Glomerulus(i) bezeichnet.

Entsprechend der selektiven Anfärbung der Hauptstückepithelien wird die Nierenrinde und der Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarkes angefärbt. Ungefärbt bleiben der Innenstreifen der Außenzone und die Innenzone des Nierenmarkes[1)].

[1)] Übersicht über die mikroskopischen Strukturen des Nephrons in den makroskopisch abgrenzbaren Bereichen in der Kaninchenniere[a) b)]

1 Nierenrinde

11 Typisches Rindengewebe:
Glomerula (kortikale und iuxtamedulläre)
Tub.cont.prox. pars convoluta
Tub.cont.prox. pars recta (vorw. d. kortikalen Gl.)
Tub.cont.dist. pars recta (vorw. d. kortikalen Gl.)
Tub.cont.dist. pars convoluta

12 Markstrahlen
Sammelrohre
Verbindungsstücke
Tub.cont.dist. et prox. pars recta (vorw. d. kortikalen Gl.)

Grenze: Art. arcuata - Vorkommen der Glomerula

2 Nierenmark

21 Außenzone (outer zone)
211 Außenstreifen (Outer medullary Zone; Outer stripe)
Tub.cont.prox. pars recta (vorw. iuxtamedulläre Gl.)
Tub.cont.dist. pars recta (vorw. iuxtamedulläre Gl.)
Sammelrohre

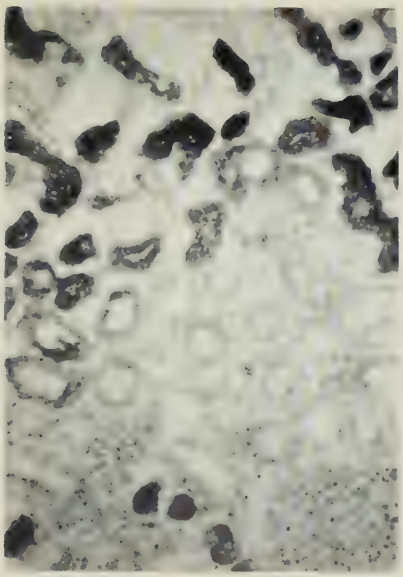
Grenze: Übergang d. Tub.cont.prox. p.recta - Überleitungsst.p.desc.

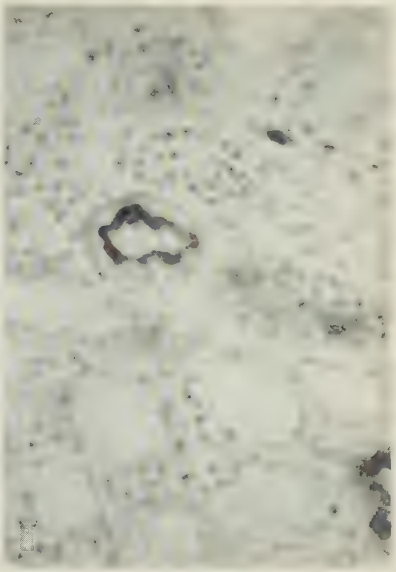
212 Innenstreifen (Inner medullary zone; Inner stripe)
Überleitungsstück pars desc.
Überleitungsstück pars asc. (vorw. kortikale Gl.)
Tub.cont.dist. pars recta (vorw. iuxtamedull. Gl.)
Sammelrohre

Grenze: Übergang des Überleitungsstückes pars asc. -Tub.cont.prox. pars recta vorw. d. iuxtamedull. Gl.

22 Innenzone (Inner zone)
Sammelrohre
Überleitungsstück pars asc.
pars desc. vorw. d. iuxtamedull. Gl.

[a)] Die makroskopische Differenzierungsmöglichkeit hat ihre Ursache vorwiegend in der unterschiedlichen Ausbildung des Kapillarnetzes des Nierenmarkes. Diese führt zur makroskopischen Differenzierung in: 1. Mark = braun-rot, 2. Außenzone = dunkelrot, 3. Innenzone=gelbl.-rosa. Es werden demnach Zuordnungen getroffen, die vorerst nicht in erkennbarem kausalen Zusammenhang stehen. Entsprechend kann es sich dabei





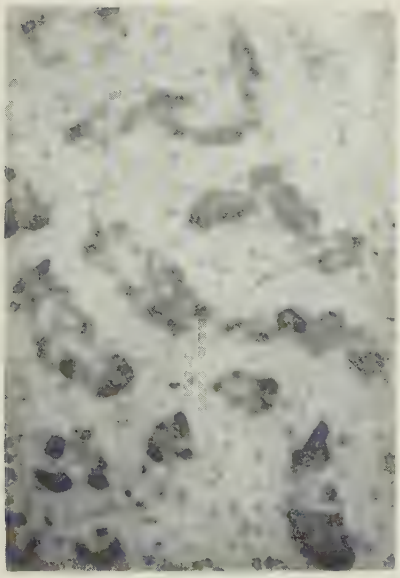
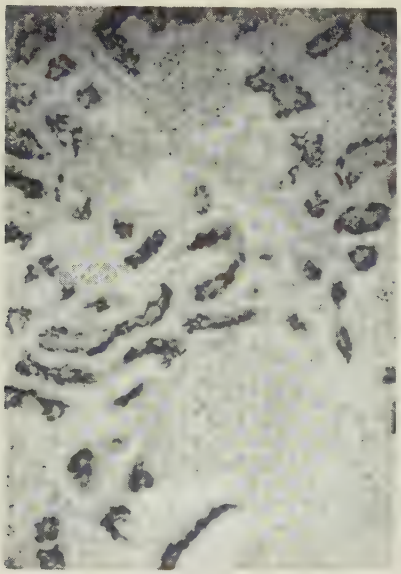


Abb. 5: 10. Tag Nierenrinde Abb. 6: 14. Tag Nierenrinde
Abb. 7: 18. Tag Nierenrinde



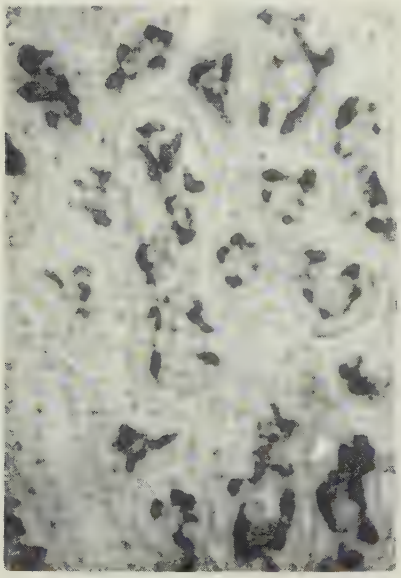


Abb. 8: 24. Tag Nierenrinde
Abb. 9: 24. Tag Nierenrinde

Verteilung im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis

Tabellarische Übersicht

Stadium	Präzipitation in den Hauptstücken[1)]	Bemerkung
1 d	3	normale Verteilung
2 d	3	normale Verteilung
4 d	3	normale Verteilung
6 d	3	normale Verteilung
10 d	1 - 2	Unregelmäßige Abnahme; vereinzelt negative Tubulusgruppen.
14 d	0 - 1	Nahezu vollständiger Aktivitätsverlust. Nur noch vereinzelte Tubulusgruppen mit schwach positiver Reaktion.
18 d	1	Vermehrt schwach positive Tubuli neben vorwiegend negativ reagierenden Tubulusgruppen
24 d	2	Positive Reaktion der Mehrzahl der Tubuli; daneben noch einige negativ reagierende Tubuli
30 d	2	Positive Reaktion fast aller Hauptstücke; vereinzelt negative Tubulusgruppen.

Bei der eingangs beschriebenen Versuchsanordnung zeigt sich ein erster deutlicher Enzymverlust erst am 10. Tag. In den davor untersuchten Krankheitsstadien (1, 2, 4 und 6 Tage) zeigt sich bis auf eine Ausnahme eine normale Enzymverteilung der alkalischen Phosphatase. Auch die Intensität der Reaktion entspricht der beim Normaltier. Davon abweichend wurde bei einem Tier bereits am 4. Tage der Erkrankung ein deutlich verminderter

---

nur um eine relative Häufigkeit des Auftretens der verschiedenen Strukturen in den einzelnen Abschnitten handeln, nicht aber um eine absolute Genauigkeit der Zuordnung.
Vgl. dazu: K. THURAU [376]

b) Literatur dazu: PETER, K. [296] [297] und FREY, W. [124]

1) siehe Abschnitt 2.2.0.

Enzymgehalt bei stark erweiterten Hauptstücklumen mit Abflachung der Epithelzellen festgestellt (Abb. 4). Am 10. Tag findet sich eine ausgeprägte, in den einzelnen Hauptstückgruppen unterschiedliche Abnahme der Enzymaktivität. Neben einigen noch positiv reagierenden Tubuli contorti proximales besteht ein ausgeprägter Aktivitätsverlust in der Nierenrinde (Abb. 5). Am 14. Tag des Krankheitsverlaufes tritt dieser Zustand am deutlichsten in Erscheinung. Gleichzeitig treten morphologische Veränderungen an den Hauptstückepithelien auf. Diese zeigen ein erweitertes Lumen bei Abnahme der Zellhöhe. An den Glomerula finden sich Veränderungen teils im Sinne einer intrakapillaren Proliferation, teils im Sinne einer extrakapsularen Proliferation der Capsula glomeruli (BOWMAN'sche Membran) (Abb. 6).

In den folgenden Stadien (18, 24, 30 Tage) kommt es in zunehmendem Ausmaß zu einer Restitution der Enzymaktivität (Abb. 7, 8 u. 9). So finden sich am 30. Tag nach der krankheitsauslösenden Injektion nur noch wenige enzymfreie Hautstücke in der überwiegend positiv reagierenden Nierenrinde. Zytologisch sieht man jetzt - im Gegensatz zu den Normaltieren - neben der starken Enzymaktivität im Bürstensaum und der diffusen zytoplasmatischen Färbung eine deutlich abgrenzbare enzymatisch aktive Schicht im basalen Bereich der Hauptstückepithelien (Abb. 9). Die morphologischen Veränderungen bilden sich ebenfalls bis zum 30. Tag wieder weitgehend zurück. Die Lumina der Hauptstücke sind normal weit und die Höhe der Epithelien gleicht der der gesunden Tiere. Die Glomerula zeigen in der Mehrzahl eine wieder normale Struktur; nur wenige Glomerula sind degenerativ verändert im Sinne einer vollständigen extrakapillaren Proliferation mit Hyalinisierung der zentralen Bereiche.

3.0.1. Saure Phosphatase

Die enzymhistochemische Darstellung der sauren Phosphatase erfolgte mittels der Metall-Salz-Methode nach GOMORI (Substrat: Natrium-β-glyzerophosphat) und der der simultanen Diazo-Kupplungstechnik (Substrat:

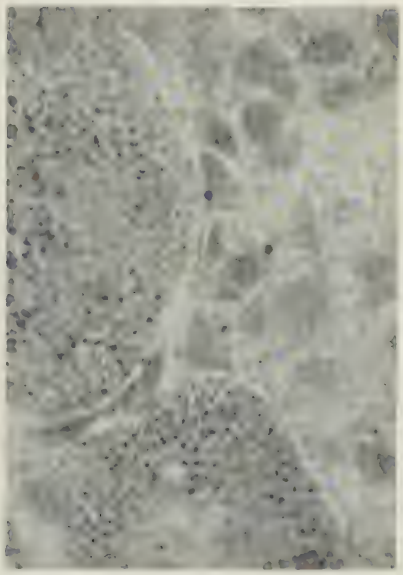


Abb. 10: Normale Nierenrinde
Abb. 11: Normales Nierenmark
Abb. 12: Normale Nierenrinde
Abb. 13: Normale Nierenrinde

α-Naphthylphosphat). Die beiden Methoden ergeben verwertbare Resultate, zeigen aber einige bisher noch nicht geklärte Unterschiede. Die Metall-Salz-Methode zeigt eine diffuse Anfärbung der zytoplasmatischen Strukturen und eine deutliche Kernaktivität an saurer Phosphatase in allen Abschnitten des Nephrons. Demgegenüber stellen sich die saure-phosphatase-positiven Strukturen bei der simultanen Diazo-Kupplungstechnik in Form einer feinen Granulierung dar; die Zellkerne bleiben ungefärbt.

Verteilung in der normalen Kaninchenniere

Die unspezifische saure Phosphatase zeigt im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase im Nephron der Kaninchenniere ein ubiquitäres Vorkommen (Abb. 10, 11, 12 u. 13). Unterschiede zeigen sich in dem Ausmaß und der zytologischen Lokalisation des Enzyms. Die maximale Enzymaktivität findet sich in den Hauptstücken, wobei die pars recta im Außenstreifen wiederum am ausgeprägtesten reagiert. Zytologisch findet man eine Zunahme der Aktivität in der Richtung vom apikalen zum basalen Teil der Epithelien.

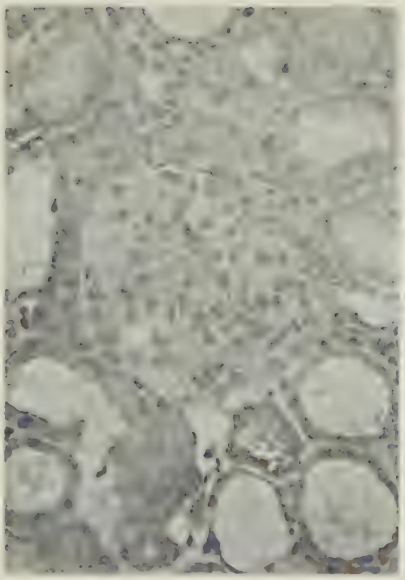
Die Glomerula einschließlich der BOWMAN'schen Kapsel weisen bei beiden Methoden eine schwache Aktivität auf; die Zuordnung dieser Aktivität zu einer der intraglomerulären Zelltypen ist lichtmikroskopisch nicht möglich. Die Mittelstücke reagieren deutlich positiv, doch geringer als die Hauptstücke. Zytologisch zeigt sich eine gleichmäßige Verteilung innerhalb der Zelle. Eine noch geringere Aktivität an sauer Phosphatase bei gleichmäßiger intrazellulärer Verteilung findet sich in dem Überleitungsstück und den Sammelrohren sowie im interstitiellen Bindegewebe. Die Blutgefäße zeigen keinerlei Aktivität der sauren Phosphatase.

Verteilung im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis

Tabellarische Übersicht:

Stadium	Grad der Präzipitation in:						Bemerkungen
	G	H	Hr	U	M	S	
Normal	1	2-3	3	1	2	1	normale Verteilung
1. Tag	1	2-3	3	1	2	1	normale Verteilung
2. Tag	1	2-3	3	1	2	1	normale Verteilung
4. Tag	1	2-3	3	1	2	1	normale Verteilung
6. Tag	1	1-2	2	1	1	1	zunehmend häufige morpholo-
10. Tag	1	1-2	2	1	1	1	gische Veränderungen:
14. Tag	1	1	2	1	1	1	erweiterte Hauptstücke in
18. Tag	1	2	3	1	2	1	Rinde und Außenstreifen.
24. Tag	1	2-3	3	1	2	1	normale Verteilung
30. Tag	1	2-3	3	1	2	1	normale Verteilung

Die Veränderungen im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis an der Aktivität der unspezifischen sauren Phosphatase zeigen spezifisch andere Charakteristika als die der alkalischen Phosphatase. Während dort auch solche Strukturen ergriffen werden, die morphologisch das Bild des Normalen zeigen, werden bei der sauren Phosphatase vorwiegend nur jene Strukturen von einer Aktivitätsminderung ergriffen, die gegenüber dem Normalbild starke morphologische Veränderungen aufweisen. Dies sind vornehmlich die stark erweiterten Tubuli der Hauptstücke im Rindenbereich und im Außenstreifen. Diese morphologischen Veränderungen beginnen am 6. Tag und nehmen bis zum 10. und 14. Tag noch erheblich zu (Abb. 14 u. 15). Am 18. Tag findet sich bereits eine teilweise Rückbildung dieser Veränderungen (Abb. 16). Entsprechend sieht man die ersten Enzymverluste am 6. Tag; am 10. und 14. Tag erreicht die Aktivitätsminderung ihre Maximum. Am 18. Tag ist das Ausmaß der Enzymverluste entsprechend dem Rückgang der morphologischen Veränderungen wieder geringer, aber selbst am 24. und 30. Tag des Krankheitsverlaufes finden sich noch einige erweiterte Hauptstücke mit herabgesetzter Enzymaktivität. In den Hauptstücken sieht



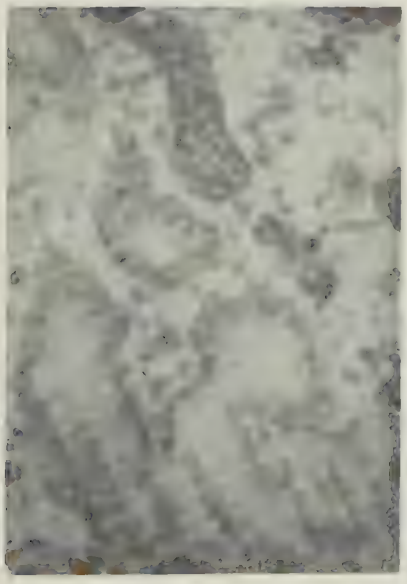


Abb. 14: 10. Tag Nierenrinde
Abb. 15: 14. Tag Nierenrinde
Abb. 16: 18. Tag Nierenrinde
Abb. 17: 24. Tag Nierenrinde-Markstrahl

sieht man zytologisch den Enzymaktivitätsverlust vor allem in den basalen Teilen der Zelle. Die Zellkerne sind (mit Natrium-β-glyzerophosphat als Substrat) in allen Stadien gleichmäßig angefärbt. Eine geringe diffuse Aktivitätsminderung scheint auch in den Mittelstücken vorzuliegen. Das Sammelrohrsystem und die Überleitungsstücke scheinen im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis keine Änderungen am Gehalt der unspezifischen sauren Phosphatase zu erleiden.

3.0.2. Saure Thiaminpyrophosphatase

Verteilung in der normalen Kaninchenniere

Die auffälligste Lokalisation der sauren Thiamindiphosphatase befindet sich in den Kapillarschlingen der Glomeruli; gleichfalls färbt sich mit gleicher Intensität die Capsula glomeruli (BOWMAN) (Abb. 18, 19, 20 u. 21). In den Glomerula ist normalerweise eine im Vergleich zum Endothel der Kapillaren noch gesteigerte Intensität der Kerne zu beobachten. Zweites Charakteristikum dieser enzymhistochemischen Reaktion an der Niere ist die intensive Kernfärbung der Haupt- und Mittelstücke. Diese Kernfärbung tritt vor allem im Bereich der Rinde hervor (Abb. 18 u. 19). Im Bereich des Markes wird sie häufig undeutlich (Abb. 20). In der Markspitze, in der das Sammelrohrsystem überwiegt, fehlt eine Kernfärbung vollständig. Die Haupt- und Mittelstücke zeichnen sich neben der intensiven Kernfärbung durch eine apikale, im Bürstensaum gelegene Enzymaktivität aus. Die Aktivität in den Kernen ist bei verschiedenen Tieren ungleich deutlich. Bei einigen Tieren tritt der Kern als scharf konturiertes Gebilde hervor, während bei anderen er als morphologisch zerrissenes Gebilde erscheint. Sehr intensive Färbung zeigen auch die Blutgefäße der Nierenrinde (Abb. 21). Dabei zeigt das Endothel eine sehr starke Reaktion, bei der wiederum, wie bei den Glomerula, die Kerne als am stärksten reagierend hervorgehoben werden können. Die Membrane elastica interna der Tunica intima ist frei von der sauren Thiamindiphosphatase, während die Tunica media und

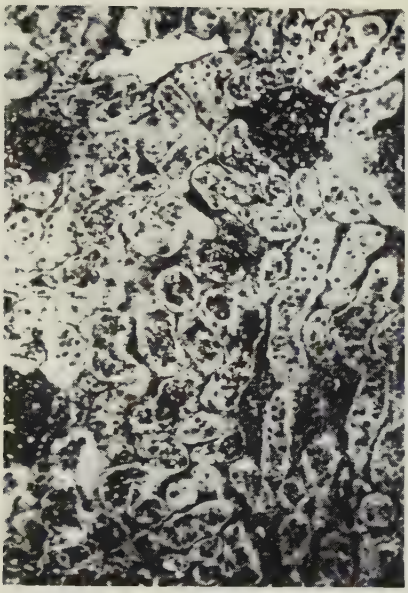
externa sehr stark angefärbt sind. Auch das Bindegewebe, sowohl im Mark als auch in der Rinde zeigt eine außerordentlich intensive Reaktion. Das Sammelrohrsystem zeigt nur eine schwache allgemeine cytoplasmatische Reaktion; eine leichte Konzentration des Enzyms befindet sich am apikalen Zellteil. Die Kerne reagieren negativ.
Es hat sich gezeigt, daß die positive Reaktion auf die saure Thiamindiphosphatase in den Glomeruli, Blutgefäßen und Kernen von der Fixation abhängt. Bei Fixation mit Formol-Calciumchlorid-Lösung statt mit Formalinlösung kommt es zu einer negativen Reaktion in den angegebenen Strukturen.

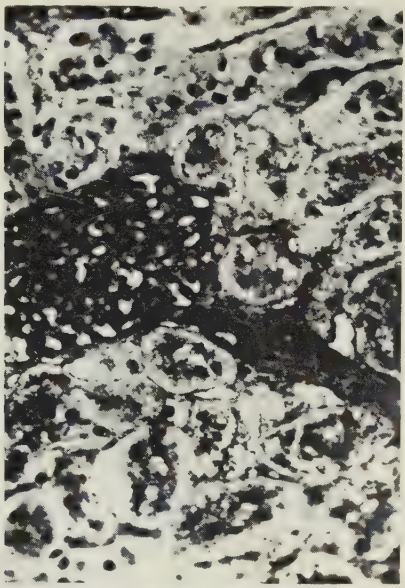
Verteilung im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis

Tabellarische Übersicht:

Stadium	Grad der Präzipitation in:								Bemerkung
	G	H	Hr	U	M	S	B	Bg	
Normal	3	2	3	1	2	1	3	3	normale Verteilung
1. Tag	3	2	3	1	2	1	3	3	normale Verteilung
2. Tag	3	2	3	1	2	1	3	3	normale Verteilung
4. Tag	3	2	3	1	2	1	3	3	normale Verteilung
6. Tag	3	1	2	1	1	1	3	3	betroffen sind vor-
10. Tag	3	1	2	0	1	1	3	3	wiegend die morpholo-
14. Tag	3	1	2	1	1	1	3	3	gisch veränderten Tubuli
18. Tag	3	2	3	1	2	1	3	3	normale Verteilung
24. Tag	3	2	3	1	2	1	3	3	normale Verteilung
30. Tag	3	2	3	1	2	1	3	3	normale Verteilung

Die Enzymänderung während der experimentellen Glomerulonephritis ähnelt in ihrer Charakteristik weitgehend der der sauren Phosphatase. Hier treten die ersten Enzymänderungen am 10. Tag auf, und zwar spezifisch in den morphologisch stark veränderten Gebilden, das sind die Tubuli der Hauptstücke. Diese sind stark erweitert und zeigen einen Verlust an sauren Thiaminpyrophosphatase, insbesondere des in dem Bürstensaum gelegenen Zellanteiles. Die Kerne scheinen ihre enzymatische Aktivität





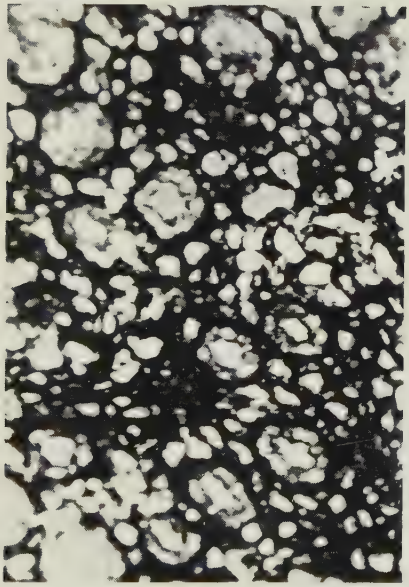
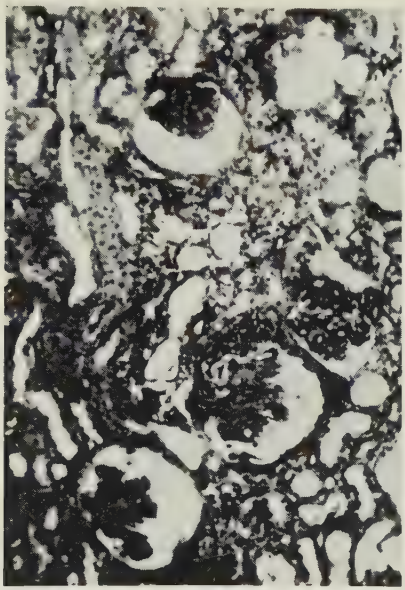


Abb. 18: Normale Nierenrinde
Abb. 19: Normale Nierenrinde
Abb. 20: Normale Markspitze
Abb. 21: Normales Blutgefäß



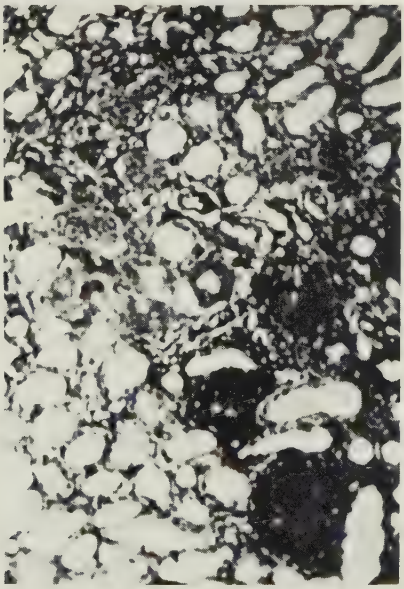


Abb. 22: 14. Tag Nierenrinde
Abb. 23: 14. Tag Nierenrinde

zum mindesten teilweise zu erhalten. Neben solchen veränderten Tubulusgruppen existieren weitere, die sowohl morphologisch als auch in ihrem enzymatischen Verteilungsmuster keine oder nur geringe Veränderungen zeigen. Das Maximum des Enzymverlustes zeigt sich am 14. und 18. Tag (Abb. 22 u. 23). Am 24. und 30. Tag ist wieder eine Zunahme der noch intakten Tubuli zu verzeichnen und eine Abnahme der pathologisch veränderten Tubuli. Das Sammelrohrsystem scheint von solchen Veränderungen im Enzymgehalt nicht betroffen zu sein. Gleichfalls zeigen die Glomerula sowie die Blutgefäße und das Bindegewebe während des Verlaufes der experimentellen Glomerulonephritis keine Unterschiede in ihrer enzymatischen Aktivität.

3.0.3. Bernsteinsäuredehydrogenase

Verteilung in der normalen Kaninchenniere

Die stärkste Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase zeigt sich in der pars recta der Hauptstücke im Außenstreifen des Markes sowie dem aufsteigenden Teil des Überleitungsstückes sowie dem geraden Teil der Mittelstücke (Abb. 24, 25, 26 u. 27). Ebenfalls beträchtliche Enzymmengen finden sich im Bereich der proximalen und distalen Tubuli contorti. Eine schwache und inkonstante Anfärbung ist bei den Sammelrohren zu beobachten. Die Glomerula sind ebenso wie die Blutgefäße und das interstitielle Bindegewebe im Rahmen der Empfindlichkeit der Methode frei von Succinatdehydrogenase.

Zytologisch verteilt sich die Bernsteinsäuredehydrogenase-Aktivität entsprechend dem Vorkommen der Mitochondrien: vorwiegend in den basalen Zellanteilen der Hauptstücke und mehr diffus verteilt in den Überleitungs- und Mittelstücken. Die Zellkerne zeigen in keinem Abschnitt des Nephrons der Kaninchenniere eine Enzymaktivität.
Innerhalb der Niere findet sich so eine beträchtliche Aktivität sowohl in der

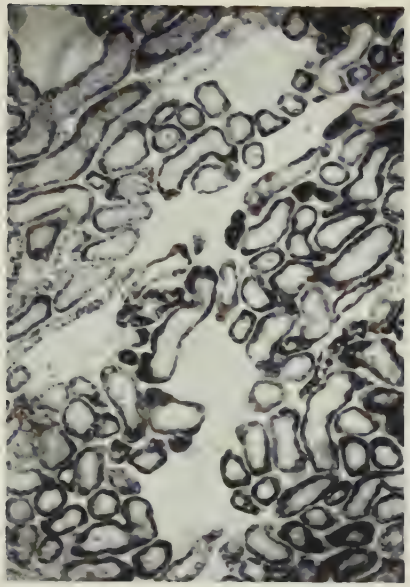
Nierenrinde als auch im Nierenmark; die am stärksten angefärbte Zone stellt der Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarkes dar.

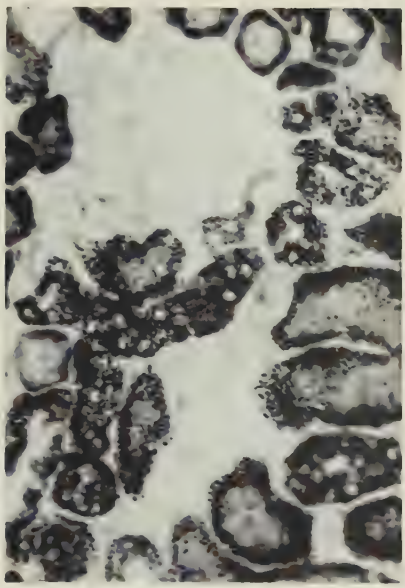
Verteilung im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis

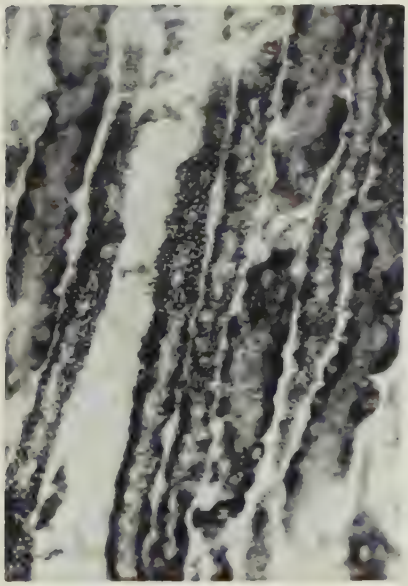
Tabellarische Übersicht:

Stadium	Grad der Präzipitation: H	Hr	U	M	S	Bemerkungen
Normal						
1. Tag	2	3	3	2	1	Normale Verteilung
2. Tag	2	3	3	2	1	Normale Verteilung
4. Tag	2	3	3	2	1	Normale Verteilung
6. Tag	1	2	2	1	1	Abnahme nur in einzelnen Tubulusgruppen
10. Tag	1	1	2	1	1	Maximum einer diffusen, nahezu alle Nephrone erfassenden Aktivitätsverminderung
14. Tag	1	1	2	1	1	
18. Tag	1	2	3	2	1	Normale Verteilung
24. Tag	2	3	3	2	1	Normale Verteilung
30. Tag	2	3	3	2	1	Normale Verteilung

Im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis findet sich am 6., 10. und 14. Tag der Erkrankung eine deutliche, zunehmende Aktivitätsminderung der Bernsteinsäuredehydrogenase. Diese betrifft vor allem die Hauptstücke des Nephrons, in geringerem Maße auch die Überleitungsstücke und Mittelstücke. Das Maximum der Aktivitätsabnahme findet sich am 10. und 14. Tag nach Injektion des krankheitsauslösenden Enten-Antikaninchennieren-Serums (Abb. 28, 29, 30 u. 31). Es kommt indes nie zu einem gänzlichen Aktivitätsabfall, auch nicht in einzelnen Tubulusgruppen. Insgesamt ist der Aktivitätsverlust wesentlich weniger ausgeprägt aus bei der unspezifischen alkalischen Phosphatase. In den folgenden untersuchten Stadien der Erkrankung (18., 24. und 30. Tag) hat sich das enzymhistochemische Verteilungsmuster bereits wieder vollständig normalisiert (Abb. 32, 33 und 34).







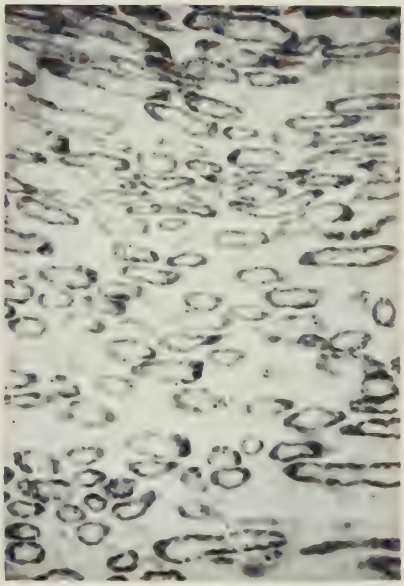
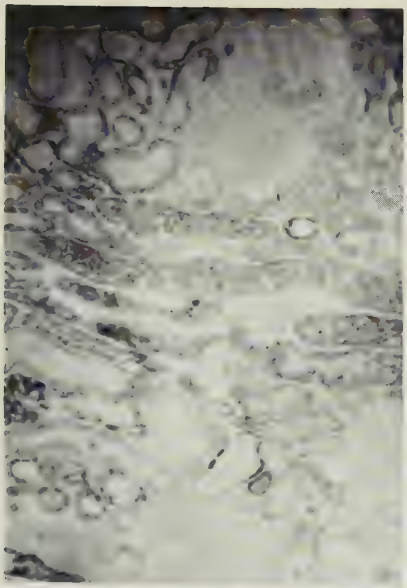


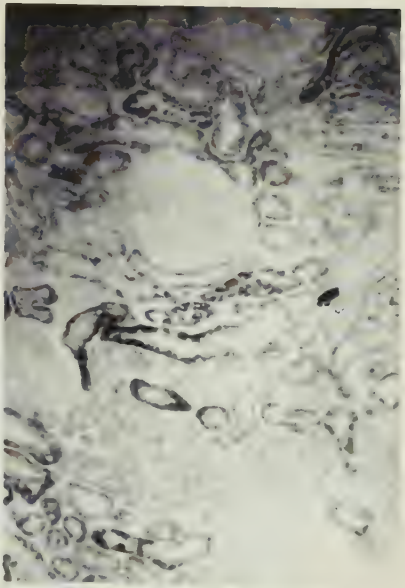
Abb. 24: Normale Nierenrinde

Abb. 25: Normale Nierenrinde

Abb. 26: Normales Nierenmark, Außenzone

Abb. 27: Normales Nierenmark, Außenzone





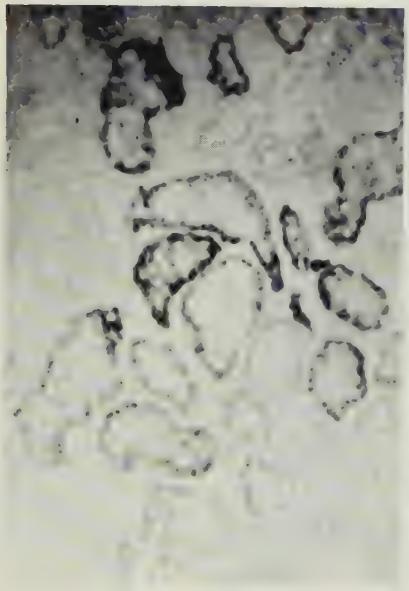
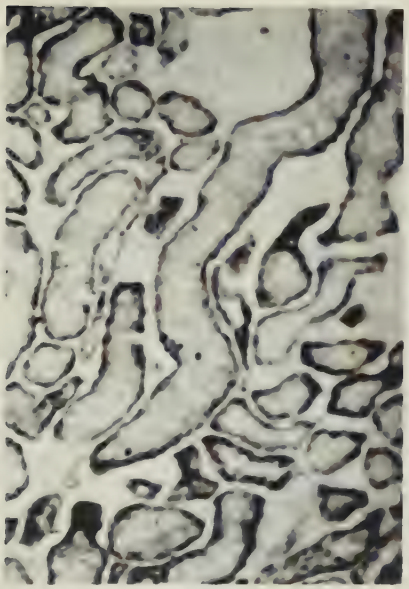
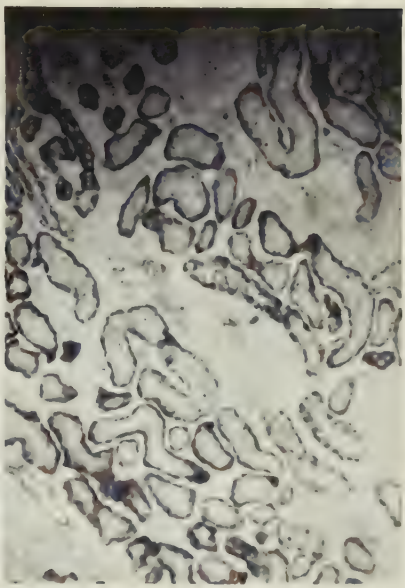


Abb. 28: 10. Tag Nierenrinde
Abb. 29: 10. Tag Nierenrinde
Abb. 30: 14. Tag Nierenrinde
Abb. 31: 14. Tag Nierenrinde





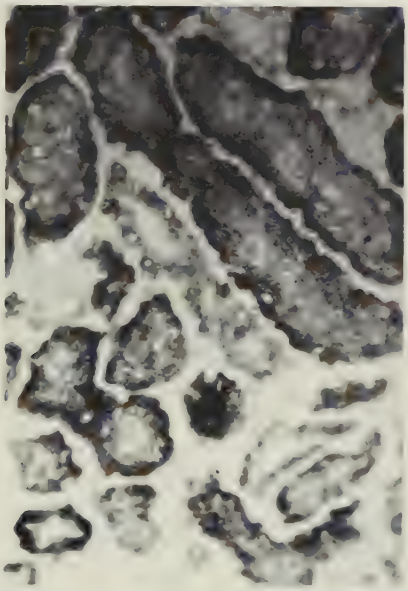


Abb. 32: 18. Tag Nierenrinde Abb. 33: 24. Tag Nierenrinde
Abb. 34: 24. Tag Nierenrinde

3.0.4. Proteingebundene Sulfhydrylgruppen

Die histochemische Darstellung der proteingebundenen Sulfhydrylgruppen erfolgte am Azeton-fixierten Kryostalschnitt. Die Kryostalschnitte lieferten eine gleich gute Färbung wie die sonst übliche Anfärbung nach Paraffineinbettung.

Verteilung in der normalen Kaninchenniere

Die stärkste Anfärbung ist in den Hauptstücken zu finden; dabei zeigen die der Nierenoberfläche nächstgelegenen proximalen Tubuli und die im Außenstreifen gelegenen geraden Anteile der Hauptstücke wiederum die intensivste Anfärbung. Zytologisch findet sich eine diffuse zytoplasmatische Anfärbung neben einer an dem basalen Zellanteil befindlichen granulierten, stärkeren Färbung. Diese Verteilung entspricht der Verteilung der Mitochondrien. Die Mittelstücke zeigen eine deutliche, aber insgesamt geringere diffuse Anfärbung. Die Größe, Dichte und basale Anhäufung der Granula ist nicht so stark ausgeprägt wie in den Hauptstücken. Die Überleitungsstücke zeigen nur eine schwache diffuse Färbung. Die Glomerula sind lediglich ganz gering gefärbt; die Zellkerne zeigen eine etwas stärkere Anfärbung.
Dies steht im Gegensatz zu den übrigen Abschnitten des Nephrons, bei denen die Kerne ungefärbt bleiben. Die Sammelrohre zeigen eine mittelstarke diffuse Anfärbung mit basaler Granulierung, die allerdings weniger stark ausgeprägt ist als in den Haupt- und Mittelstücken. Das interstitielle Bindegewebe bleibt ungefärbt. Die Gefäße zeigen eine differenzierte Anfärbung: ohne Reaktion bleibt die Intima; den stärksten Farbstoffniederschlag zeigt die Membrane elastica interna; die Tunica media et externa stellt sich mittelstark diffus angefärbt dar.

Verteilung im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis

Tabellarische Übersicht:

Stadium	Grad der Präzipaitation					Bemerkung
	H	M	U	S	Bg	
Normal	3	2	1	2	3	normale Verteilung
1. Tag	3	2	1	2	3	normale Verteilung
2. Tag	3	2	1	2	3	normale Verteilung
4. Tag	3	2	1	2	3	normale Verteilung
6. Tag	3	2	1	2	3	normale Verteilung
10. Tag	2	2	1	2	3	Minderung der Farbintensität sowie Dicke und Dichte der basalen An-
14. Tag	1-2	1	1	2	3	färbung in den erweiterten Tubuli
18. Tag	2	2	1	2	3	Normale Verteilung
24. Tag	3	2	1	2	3	Normale Verteilung
30. Tag	3	2	1	2	3	Normale Verteilung

Die Darstellung der proteingebundenen Sulfhydrylgruppen zeigt im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis nur eine geringe Änderung. Am 10. und 14. Tag nach Injektion findet sich in den morphologisch stark erweiterten Tubuli mit verminderter Zellhöhe des Epithels eine Abnahme der Farbintensität; gleichzeitig stellt sich der basale Zellbereich der Hauptstückepithelien normalerweise verstärkt, granuliert gefärbt, weniger dicht und breit dar. Diese Veränderungen bilden sich mit Abnahme der morphologischen Änderungen wieder zurück, so daß man am 18. bis 30. Tag des Krankheitsverlaufes eine normale Verteilung findet.

3.0.5. Histologischer Verlauf

Der histologische Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis ist weitgehend einheitlich und entspricht dem in der Literatur angegebenen (MOENCH, A. [259], MASUGI, M. [244], WACHSTEIN, M. et al. [393].

Am 6. Tag (z.T. schon am 4. Tag) findet sich eine Schwellung aller Glomerula mit Verschmälerung des BOWMAN'schen Kapselraumes. Die Kapillarendothelien schwellen und proliferieren, so daß es zu einem vermehrten Kerngehalt der Glomerula kommt. Innerhalb der Glomerula finden sich vermehrt segmentkernige Leukozyten. Am 10. und 14. Tag stellen sich die Lumina der Mittel- und Hauptstücke erweitert dar; die Zellhöhe des Epithels nimmt ab. Das Zytoplasma der Epithelien bleibt homogen; es finden sich weder Vakuolen, noch andere Einschlüsse. Innerhalb der Tubuli (erweiterte und unveränderte) finden sich häufig homogene eosinophile Niederschläge. Vom 14. Tag an, verstärkt ab dem 18. Tag, kommt es in einigen Glomerula neben der intrakapillaräen Proliferation auch zur extrakapillären Proliferation mit deutlicher Halbmondbildung. Diese schreitet bei einzelnen Glomerula bis zur völligen Ausfüllung derselben mit nachfolgender Hyalinisierung fort. Die Arterien und Arteriolen zeigen keine histologischen Veränderungen. Am 30. Tage nach Injektion des Enten-Antikaninchennierenserums zeigt die Mehrzahl der Glomerula wieder eine normale Struktur. Diejenigen Glomerula, die durch extrakapilläre Proliferation verändert sind, zeigen auch jetzt noch das gleiche Bild. Das Ausmaß der von der extrakapillären Proliferation erfaßten Glomerula ist bei den verschiedenen Tieren ungleich, im Gegensatz zu dem gleichmäßigen Befall der Glomerula durch die intrakapilläre Proliferation in den früheren Stadien der experimentellen Glomerulonephritis.

3.1. ERGEBNISSE DER BIOCHEMISCHEN BESTIMMUNGEN

3.1.0. Ergebnisse der Substratbestimmungen

(0.) Adeonosintriphosphat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- ATP	Normaltier	(14)	1.46 ± 0.46	0.12		./.	
rinde	6. Tag	(3)	1.33 ± 0.69	0.40		0.60-0.70	(t)
[10^{-6}Mol/g Fg]	10. Tag	(5)	1.74 ± 0.74	0.33		0.40-0.50	(t)
	14. Tag	(5)	1.63 ± 0.61	0.27		0.50-0.60	(t)
Vollblut ATP	Normaltier	(7)	0.75 ± 0.63	0.24			
[10^{-6}Mol/g Fg]	6. Tag	(3)	0.39 ± 0.03	0.02		1.00	(ZWV)
	10. Tag	(4)	0.49 ± 0.15	0.08		0.40-0.50	(t)
	14. Tag	(4)	0.28 ± 0.13	0.06		0.10-0.20	(t)

Der Adenosintriphosphatgehalt zeigt im Nierenrindenextrakt im Verlauf der Glomerulonephritis keine signifikanten Änderunge. Die Mittelwerte zeigen eine ansteigende Tendenz, doch vergrößern sich ebenfalls die Streuungen.

Auch im Vollblutextrakt läßt sich keine signifikante Änderung im ATP-Gehalt feststellen, obwohl ein erhebliches Absinken der Mittelwerte zu beobachten ist.

(1.) Adenosindiphosphat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- ADP [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(15)	0.63 ± 0.22	0.06			
	6.Tag	(3)	0.57 ± 0.16	0.09	0.60-0.70	(t)	
	10.Tag	(5)	0.73 ± 0.24	0.11	0.40-0.50	(t)	
	14.Tag	(5)	0.69 ± 0.28	0.12	0.60-0.70	(t)	
Vollblut ADP [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(7)	0.08 ± 0.03	0.01			
	6.Tag	(3)	0.07 ± 0.02	0.01	0.90-0.95	(t)	
	10.Tag	(4)	0.09 ± 0.03	0.01	0.70-0.80	(t)	
	14.Tag	(4)	0.08 ± 0.03	0.02	0.80-0.90	(t)	

Eine Änderung des ADP-Gehaltes im Verlauf der Glomerulonephritis ist weder in der Nierenrinde noch im Vollblutextrakt zu messen.

(2.) Adenosinmonophosphat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- AMP [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(15)	1.03 ± 0.43	0.11			
	6.Tag	(3)	1.14 ± 0.26	0.15	0.60-0.70	(t)	
	10.Tag	(5)	1.17 ± 0.97	0.43	0.60-0.70	(t)	
	14.Tag	(5)	1.42 ± 0.62	0.28	0.10-0.20	(t)	
Vollblut AMP [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(8)	0.20 ± 0.17	0.06			
	6.Tag	(3)	0.08 ± 0.03	0.02	0.20-0.30	(t)	
	10.Tag	(4)	0.09 ± 0.04	0.02	0.20-0.30	(t)	
	14.Tag	(4)	0.10 ± 0.04	0.02	0.20-0.30	(t)	

Auch der Adenosinmonophosphatgehalt zeigt in allen untersuchten Stadien des Krankheitsverlaufes im Nierenrinden- und im Vollblutextrakt keine signifikanten Änderungen.

(3.) Summe der Adenosinnucleotide (ATP + ADP + AMP)

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- Σ AD-NU rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(13)	2.99 ± 0.85	0.24			
	6.Tag	(3)	3.04 ± 0.58	0.34	0.90-0.95	(t)	
	10.Tag	(5)	3.64 ± 0.50	0.22	0.10-0.20	(t)	
	14.Tag	(5)	3.73 ± 0.83	0.37	0.10-0.20	(t)	
Vollblut Σ AD-NU [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(6)	0.67 ± 0.46	0.19			
	6.Tag	(3)	0.54 ± 0.08	0.04	0.60-0.70	(t)	
	10.Tag	(4)	0.67 ± 0.17	0.08	0.97-0.98	(t)	
	14.Tag	(4)	0.46 ± 0.20	0.10	0.40-0.50	(t)	

Die Summe der Adenosinnucleotide (ATP + ADP + AMP) in der Nierenrinde zeigt einen Anstieg mit einem Maximum am 14. Tage des Krankheitsverlaufes. Dieser Anstieg ist jedoch infolge der hohen Streuung nicht signifikant [P(2α) : 0.10-0.20].

Im Vollblutextrakt zeigt sich ebenfalls keine signifikante Veränderung im Gehalt der Adenosinnucleotide.

(4.) ATP/ADP-Quotient

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- ATP/ADP rinde	Normaltier	(13)	2.81 ± 1.45	0.40			
	6.Tag	(3)	2.24 ± 0.83	0.48	0.50-0.60	(t)	
	10.Tag	(5)	2.76 ± 1.73	0.77	0.90-0.95	(t)	
	14.Tag	(5)	2.45 ± 1.43	0.64	0.60-0.70	(t)	
Vollblut ATP/ADP	Normaltier	(5)	7.52 ± 5.11	2.29			
	6.Tag	(3)	5.74 ± 1.06	0.61	0.60-0.70	(t)	
	10.Tag	(4)	5.81 ± 1.56	0.78	0.80-0.90	(t)	
	14.Tag	(4)	4.23 ± 1.92	0.96	0.40-0.50	(t)	

Der ATP/ADP-Quotient bleibt in der Nierenrinde während der Glomerulonephritis konstant.

Im Vollblutextrakt zeigen die Mittelwerte des ATP/ADP-Quotienten einen Abfall von 7.52 (Normaltiere) auf 4.23 am 14. Tag des Krankheitsverlaufes. Doch ist auch dieser Abfall infolge der breiten Streuung der Normalwerte statistisch nicht zu sichern.

(5.) Glukose

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- GLU rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(12)	6.3	± 4.3	1.2		
	6. Tag	(3)	3.3	± 0.3	0.1	0.08	(ZWV)
	10. Tag	(5)	4.0	± 0.7	0.3	0.62	(ZWV)
	14. Tag	(5)	3.7	± 2.0	0.9	0.10-0.20	(t)
Vollblut GLU [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(7)	4.2	± 1.8	0.7		
	6. Tag	(3)	5.3	± 1.8	1.0	0.40-0.50	(t)
	10. Tag	(4)	4.9	± 0.6	0.3	0.40-0.50	(t)
	14. Tag	(2)	2.6	± 0.3	0.2	0.20-0.30	(t)

Der Glukosegehalt der Nierenrinde zeigt am 6. Tag der Glomerulonephritis einen signifikanten Abfall um 50% von 6.5 10^{-6}Mol/g Fg auf 3.3 10^{-6}Mol/g Fg. Im weiteren Verlauf bleiben die Mittelwerte des Glukosegehaltes wohl auf einem ähnlich niedrigen Stand, doch ist infolge der größeren Streuung eine Signifikanz des Abfalles nicht zu sichern.

Die Blutzuckerkonzentration verändert sich dabei nicht.

(6.) Glukose-6-phosphat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- G-6-P rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(7)	0.08 ± 0.02	0.01			
	6. Tag	(2)	0.03 ± 0.002	0.001	0.025-0.05		(t)
	10. Tag	(5)	0.05 ± 0.02	0.01	0.05 -0.10		(t)
	14. Tag	(5)	0.08 ± 0.02	0.01	0.80 -0.90		(t)
Vollblut G-6-P [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(5)	0.017 ± 0.008	0.004			
	6. Tag	(3)	0.013 ± 0.006	0.004	0.50-0.60		(t)
	10. Tag	(4)	0.014 ± 0.007	0.004	0.50-0.60		(t)
	14. Tag	(2)	0.027 ± 0.013	0.009	0.30		(t)

Der Glukose-6-phosphatgehalt im Nierenrindenextrakt zeigt am 6. Tag und 10. Tag der exp. Glumerulonephritis eine signifikante Änderung. Am 6. Tag beträgt der G-6-P-Gehalt nur noch 40% des Ausgangswertes; am 10. Tag liegt der G-6-P-Gehalt bereits wieder höher bei etwa 70% des Normalwertes. Am 14. Tag hat der G-6-P-Gehalt sich wieder normalisiert.

Der Vollblutextrakt wiest keine signifikanten Änderungen des G-6-P-Gehaltes auf.

(7.) Fruktose-1.6.-diphosphat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- FDP rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(12)	0.031 ± 0.020	0.006			
	6. Tag	(3)	0.045 ± 0.021	0.012	0.20-0.30		(t)
	10. Tag	(4)	0.038 ± 0.014	0.007	0.50-0.60		(t)
	14. Tag	(5)	0.060 ± 0.028	0.012	0.02-0.05		(t)
Vollblut FDP [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(6)	0.006 ± 0.001	0.0004			
	6. Tag	(3)	0.007 ± 0.004	0.003	0.40-0.50		(t)
	10. Tag	(4)	0.024 ± 0.030	0.015	0.52		(ZWV)
	14. Tag	(4)	0.010 ± 0.007	0.004	1.00		(ZWV)

Der FDP-Gehalt des Nierenrindenextraktes ist am 14. Tag der Glomerulonephritis auf das Doppelte des Normalwertes angestiegen. Dieser Anstieg ist statistisch signifikant.

Im Vollblutextrakt lassen sich keine signifikanten Änderungen nachweisen.

(8.) Dihydroxyazetonphosphat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- DAP [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(12)	0.018 ± 0.008	0.002			
rinde	6. Tag	(3)	0.020 ± 0.010	0.006	0.60-0.70		(t)
	10. Tag	(5)	0.028 ± 0.007	0.003	0.01-0.02		(t)
	14. Tag	(5)	0.042 ± 0.012	0.006	< 0.001		(t)
Vollblut DAP [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(6)	0.006 ± 0.002	0.001			
	6. Tag	(3)	0.006 ± 0.003	0.002	1.00		(t)
	10. Tag	(4)	0.009 ± 0.005	0.002	0.10-0.20		(t)
	14. Tag	(3)	0.008 ± 0.008	0.004	0.52		(ZWV)

Der DAP-Gehalt des Nierenrindenextraktes ist am 10. und 14. Tag des Krankheitsverlaufes signifikant um 50% bzw. um 130% angestiegen.

Im Vollblutextrakt sind keine Veränderungen des DAP-Gehaltes zu messen.

(9.) Glyzerin-1-phosphat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [10^{-6} Mol/g Fg] 1-PG	Normaltier	(11)	0.22 ± 0.14	0.04			
	6. Tag	(2)	0.74 ± 0.60	0.42	0.46	(ZWV)	
	10. Tag	(5)	0.44 ± 0.39	0.18	0.28	(ZWV)	
	14. Tag	(4)	0.49 ± 0.41	0.21	0.57	(ZWV)	
Vollblut [10^{-6} Mol/g Fg] 1-PG	Normaltier						
	6. Tag		Glyzerin-1-phosphatgehalt im Blut				
	10. Tag		unterhalb der Empfindlichkeit der				
	14. Tag		Methode.				

Der Glyzerin-1-phosphat-Gehalt in der Nierenrinde zeigt im Krankheitsverlauf keine statistisch signifikante Abweichung von den Normalwerten, obwohl die Mittelwerte erheblich ansteigen; gleichzeitig kommt es aber auch zu einem starken Anstieg der Streuungen.

Im Vollblutextrakt wurde mit dem angewandten optischen Test kein Glyzerin-1-phosphat nachgewiesen.

(10.) Glyzerin-1-phosphat/Dihydroxyazetonphosphat-Quotient

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde 1-PG/DAP	Normaltier	(9)	11.89 ± 9.30	3.10			
	6. Tag	(2)	28.00 ± ./.	./.	./.	./.	
	10. Tag	(5)	9.25 ± 6.97	3.12	0.50-0.60	(t)	
	14. Tag	(4)	10.76 ± 5.52	2.76	0.80-0.90	(t)	

Der Quotient aus G-1-P-Gehalt und DAP-Gehalt in der Nierenrinde zeigt keine statistisch zu sichernde Änderung. Auch hier findet sich am 6. Tag ein Anstieg auf mehr als das Doppelte des Normalwertes, doch wurde von einer statistischen Auswertung wegen der geringen Tierzahl (2 Tiere) abgesehen.

(11.) Summe aus Glyzerin-1-phosphat und Dihydroxyazetonphosphat

Tabellarische Übersicht:

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren-rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	1-PG+DAP	Normaltier	(9)	0.26 ± 0.15		0.049		
		6.Tag	(2)	0.76 ±	./.	./.	./.	./.
		10.Tag	(5)	0.47 ± 0.40		0.177	0.10-0.20	(t)
		14.Tag	(4)	0.54 ± 0.43		0.217	0.10-0.20	(t)

Die Summe des Redoxpaares DAP + 1-PG zeigt keinen statistisch zu sichernden Anstieg im Nierenrindenextrakt. Die Werte für den 6. Tag liegen zwar erheblich über dem Normalwert (um das Dreifache), doch wurde von einer statistischen Auswertung abgesehen, da die Werte nur bei zwei Tieren gemessen werden konnten.

(12.) Pyruvat

Tabellarische Übersicht:

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren-rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	PY	Normaltier	(14)	0.21 ± 0.11		0.03		
		6.Tag	(3)	0.26 ± 0.11		0.07	0.40-0.50	(t)
		10.Tag	(5)	0.61 ± 0.47		0.21	0.30	(ZWV)
		14.Tag	(5)	0.52 ± 0.35		0.16	0.30	(ZWV)
Vollblut [10^{-6}Mol/g Fg]	PY	Normaltier	(7)	0.11 ± 0.04		0.02		
		6.Tag	(3)	0.10 ± 0.06		0.04	0.80-0.90	(t)
		10.Tag	(4)	0.19 ± 0.03		0.02	0.025-0.05	(t)
		14.Tag	(4)	0.15 ± 0.09		0.04	0.30-0.40	(t)

Sowohl im Vollblutextrakt, als auch im Nierenrindenextrakt läßt sich keine statistisch zu sichernde Änderung im Pyruvatgehalt messen. Im Nierenrindenextrakt steigen die Mittelwerte zwar deutlich an, doch kommt es gleichzeitig zu erheblichen größeren Streuungen.

(13.) Laktat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- LAK rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(10)	3.24 ± 1.74	0.55			
	6.Tag	(3)	0.86 ± 0.34	0.20	0.025-0.05		(t)
	10.Tag	(5)	1.09 ± 0.58	0.26	0.025-0.05		(t)
	14.Tag	(4)	1.43 ± 0.44	0.22	0.05 -0.10		(t)
Vollblut LAK [10^{-6}Mol/g Fg]	Normaltier	(9)	0.52 ± 0.20	0.08			
	6.Tag	(3)	0.41 ± 0.09	0.05	0.40 -0.50		(t)
	10.Tag	(4)	0.61 ± 0.29	0.14	0.50 -0.60		(t)
	14.Tag	(4)	0.73 ± 0.69	0.35	0.40 -0.50		(t)

Der Laktatgehalt der Nierenrinde ist in allen untersuchten Stadien im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis erheblich (auf ca. 30% des Normalwertes) und statistisch hochsignifikant vermindert.

Im Vollblutextrakt zeigen sich keine Veränderungen.

(14.) Laktat/Pyruvat-Quotient

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- LAK/PY rinde	Normaltier	(7)	12.4 ± 7.2	2.5			
	6.Tag	(3)	3.9 ± 2.3	1.4	0.001-0.005		(t)
	10.Tag	(5)	4.0 ± 2.3	1.0	0.025-0.05		(t)
	14.Tag	(4)	3.5 ± 2.4	1.2	<0.001		(t)
Vollblut LAK/PY	Normaltier	(7)	6.5 ± 4.3	1.6			
	6.Tag	(3)	5.7 ± 3.9	2.2	0.70 -0.80		(t)
	10.Tag	(4)	3.1 ± 1.4	0.7	0.10 -0.20		(t)
	14.Tag	(4)	6.8 ± 7.5	4.3	0.90 -0.95		(t)

Entsprechend des signifikant verminderten Laktatgehaltes zeigt sich auch beim Laktat-Pyruvat-Quotienten des Nierenrindenextraktes in allen Stadien ein hoch signifikanter Abfall der Werte auf etwa 30% des Ausgangswertes.

Im Vollblutextrakt sind keine Veränderungen festzustellen.

(15.) Summe aus Laktat und Pyruvat

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [10^{-6}Mol/g Fg]	LAK+PY Normaltier	(7)	3.48 ± 1.89	0.67			
	6.Tag	(3)	1.12 ± 0.28	0.16	0.05-0.10		(t)
	10.Tag	(5)	1.17 ± 0.88	0.40	0.05-0.10		(t)
	14.Tag	(4)	2.02 ± 0.50	0.25	0.20-0.30		(t)
Vollblut [10^{-6}Mol/g Fg]	LAK+PY Normaltier	(7)	0.63 ± 0.21	0.08			
	6.Tag	(3)	0.51 ± 0.09	0.05	0.30-0.40		(t)
	10.Tag	(4)	0.80 ± 0.31	0.15	0.20-0.30		(t)
	14.Tag	(4)	0.89 ± 0.72	0.36	0.30-0.40		(t)

Die Summe aus Laktat- und Pyruvatgehalt im Nierenrindenextrakt zeigt entsprechend dem Laktatabfall ebenfalls eine Verminderung in allen Krankheitsstadien, die allerdings nur für den 6. und 10. Tag statistisch zu sichern ist.

Im Vollblutextrakt ergibt sich auch bei der Summe aus dem Laktat- und Pyruvatgehalt keine signifikante Änderung.

3.1.1. Ergebnisse der Enzymbestimmungen

(0.) Enzyme des glykolytischen Abbauweges

(0.0.) Phosphoglukomutose

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	PGluM Normal	(10)	2.9 ± 2.3	0.7			
	6.Tag	(5)	5.3 ± 3.9	1.8		0.10-0.20	(t)
	10.Tag	(5)	1.8 ± 1.0	0.4		0.30-0.40	(t)
	14.Tag	(5)	1.6 ± 0.6	0.3		0.20-0.30	(t)
Vollblut PGluM [I.E./g Fg]	Normal	-					
	6.Tag	-	keine meßbare PGluM-Aktivität im Vollblut				
	10.Tag	-					
	14.Tag	-					

Im Nierenrindenextrakt findet man eine gleichbleibende Enzymaktivität in allen untersuchten Krankheitsstadien.

Die PGluM-Aktivität im Vollbutextrakt liegt unterhalb der mit der angegebenen Testmentode und Meßvorrichtung meßbaren Aktivität.

(0.1.) Hexokinase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	HK Normal	(8)	1.7 ± 1.7	0.6			
	6.Tag	(5)	0.2 ± 0.3	0.1		0.10	(ZWV)
	10.Tag	(5)	0.9 ± 0.2	0.1		1.00	(ZWV)
	14.Tag	(5)	1.3 ± 0.2	0.1		1.00	(ZWV)
Vollblut [I.E./g Fg]	HK Normal	(5)	0.42 ± 0.18	0.08			
	6.Tag	(3)	0.30 ± 0.20	0.12		0.40-0.50	(t)
	10.Tag	(5)	0.22 ± 0.18	0.08		0.10-0.20	(t)
	14.Tag	(5)	0.20 ± 0.18	0.08		0.05-0.10	(t)

Im Nierenrindenextrakt zeigt sich am 6. Tage ein signifikanter Abfall der Enzymaktivität auf 12% des Ausgangswertes. Am 10. und 14. Tag der experimentellen Glomerulonephritis zeigen sich wieder höhere HK-Aktivitäten; die Mittelwerte liegen noch unter dem des Normalwertes, doch läßt sich wegen der erheblich streuenden Werte bei den Normaltieren keine statistisch signifikante Änderung feststellen.

Im Vollblutextrakt findet sich eine signifikante Verminderung der Enzymaktivität erst am 14. Tag des Krankheitsverlaufes; die HK-Aktivität sinkt auf 50% des Normalwertes. Die Mittelwerte der HK-Aktivitäten am 6. und 10. Tag sind zwar ebenfalls schon vermindert, doch läßt sich diese Verminderung nicht statistisch sichern.

TABELLE 6: Abhängigkeit der Hexokinaseaktivität vom pH-Wert

pH[1)]	Normaltier	10. Tag
6.0	0.01	-
6.1	1.5	-
6.3	1.8	1.5
6.5	2.9	2.6
6.6	3.7	2.8
7.2	4.4	3.8
7.4	4.7	4.1
7.8	4.8	3.9
8.0	4.1	3.6
8.2	4.1	3.4
8.4	3.9	2.7
9.1	0.7	0.6
9.2	0.4	0.5

Sowohl beim Normaltier, als auch beim erkrankten Tier (10. Tag) findet sich ein pH-Optimum der Hexokinaseaktivität zwischen 7.4 - 7.8.

---

1) pH-Werte in der Kuvette nach Einpipettieren des Test-Ansatzes, vor Zugabe des Substrates als Startsubstanz gemessen

(0.2.) Phosphoglukose-isomerase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	PGI Normal	(12)	117 ± 36	10			
	6. Tag	(5)	91 ± 35	15		0.10-0.20	(t)
	10. Tag	(5)	92 ± 28	13		0.10-0.20	(t)
	14. Tag	(5)	86 ± 15	7		0.05-0.10	(t)
Vollblut [I.E./g Fg]	PGI Normal	(11)	9.2 ± 1.9	0.6			
	6. Tag	(5)	8.7 ± 2.0	0.9		0.60-0.70	(t)
	10. Tag	(5)	7.6 ± 3.7	1.6		0.20-0.30	(t)
	14. Tag	(4)	7.5 ± 1.0	0.5		0.10-0.20	(t)

Die Phosphoglukose-isomerase-Aktivität im Nierenrindenextrakt zeigt im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis einen kontinuierlichen Abfall, der am 14. Krankheitstag signifikant wird; die Werte fallen auf 75% des Ausgangswertes ab.

Im Vollblutextrakt zeigen sich keine veränderten PGI-Aktivitäten.

(0.3.) Fruktosephosphatkinase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	FPK Normal	(11)	2.8 ± 0.9	0.3			
	6. Tag	(5)	2.1 ± 1.6	0.7		0.20-0.30	(t)
	10. Tag	(5)	2.0 ± 1.2	1.0		0.20-0.30	(t)
	14. Tag	(5)	2.7 ± 0.9	0.4		0.80-0.90	(t)
Vollblut [I.E./g Fg]	FPK Normal	(7)	1.9 ± 1.4	0.5			
	6. Tag	(5)	0.3 ± 0.2	0.1		0.02	(ZWV)
	10. Tag	(3)	0.7 ± 0.3	0.2		0.17	(ZWV)
	14. Tag	(5)	1.7 ± 0.9	0.4		0.80-0.90	(t)

Die FPK-Aktivität im Nierenrindenextrakt bleibt im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis konstant.

Dagegen zeigt sich im Vollblutextrakt eine signifikante Abnahme der FPK-Aktivität am 6. Tag nach der krankheitsauslösenden Injektion auf 16% des Ausgangswertes; am 10. Tag liegt die FPK-Aktivität zwar noch erheblich unter dem Normalwert, doch ist diese Verminderung statistisch nicht zu sichern.

(0.4.) Diphosphofruktose-Aldolase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- ALD rinde [I.E./g Fg]	Normal	(11)	7.3 ± 4.2	1.3			
	6. Tag	(5)	7.6 ± 3.8	1.7	0.80-0.90		(t)
	10. Tag	(5)	7.1 ± 3.4	1.5	0.90-0.95		(t)
	14. Tag	(5)	4.7 ± 1.0	0.5	0.20-0.30		(t)
Vollblut ALD [I.E./g Fg]	Normal	(7)	1.4 ± 1.2	0.5			
	6. Tag	(5)	0.5 ± 0.3	0.1	0.56		(ZWV)
	10. Tag	(3)	0.4 ± 0.03	0.01	0.03		(ZWV)
	14. Tag	(4)	0.4 ± 0.2	0.1	0.10-0.20		(t)

Die Aldolase-Aktivität im Nierenrindenextrakt bleibt im gesamten Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis konstant.

Im Vollblut zeigt sich am 10. Krankheitstag eine statistisch gesicherte Aktivitätsabnahme auf 28% des Ausgangswertes. Die Mittelwerte der Enzymaktivität liegen auch am 6. und 14. Tag erheblich unter denen der Normaltiere, doch ist dieser Abfall nicht statistisch zu sichern.

(0.5.) Glyzerinaldehydphosphatdehydrogenase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	GAPDH Normal	(11)	124 ± 30	9			
	6. Tag	(5)	147 ± 61	27		0.30-0.40	(t)
	10. Tag	(5)	249 ± 245	123		1.0	(ZWV)
	14. Tag	(5)	114 ± 20	9		0.50-0.60	(t)
Vollblut [I.E./g Fg]	GAPDH Normal	(11)	11.7 ± 4.2	1.3			
	6. Tag	(5)	15.6 ± 7.6	3.4		0.20-0.30	(t)
	10. Tag	(5)	13.1 ± 3.6	1.4		0.50-0.60	(t)
	14. Tag	(5)	15.6 ± 3.1	1.4		0.30-0.40	(t)

Die GAPDH-Aktivität zeigt weder beim Nierenrindenextrakt noch im Vollblutextrakt eine Veränderung im Laufe der experimentellen Glomerulonephritis.

(0.6.) Phosphoglyzeratkinase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	PGK Normal	(11)	159 ± 30	9			
	6. Tag	(5)	135 ± 53	24		0.20-0.30	(t)
	10. Tag	(5)	115 ± 41	18		0.025-0.05	(t)
	14. Tag	(5)	124 ± 21	9		0.025-0.05	(t)
Vollblut [I.E./g Fg]	PGK Normal	(11)	9.7 ± 3.3	1.0			
	6. Tag	(5)	8.6 ± 1.9	0.9		0.40-0.50	(t)
	10. Tag	(5)	11.0 ± 2.2	1.0		0.50-0.60	(t)
	14. Tag	(5)	10.5 ± 3.3	1.5		0.60-0.70	(t)

Die PGK-Aktivität ist im Nierenrindenextrakt am 6. und 14. Tage nach der krankheitsauslösenden Injektion signifikant auf 70% bzw. 79% des Normalwertes vermindert.

Im Vollblutextrakt bleibt die Enzymaktivität konstant.

(0.7.) Phosphoglyzeratmutase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- PGM [I.E./g Fg]	Normal	(12)	101 ± 35	10			
	6. Tag	(5)	42 ± 42	19		0.005-0.01	(t)
	10. Tag	(5)	40 ± 28	12		0.001-0.005	(t)
	14. Tag	(5)	54 ± 26	11		0.01-0.02	(t)
Vollblut PGM [I.E./g Fg]	Normal	(11)	1.5 ± 0.6	0.2			
	6. Tag	(5)	0.6 ± 0.2	0.1		0.005-0.01	(t)
	10. Tag	(5)	1.1 ± 0.5	0.2		0.20-0.30	(t)
	14. Tag	(3)	0.8 ± 0.5	0.3		0.05-0.10	(t)

Im Nierenrindenextrakt zeigt sich in allen untersuchten Stadien eine hochsignifikante Verminderung der PGM-Aktivität auf 40 - 55% des Normalwertes.

Im Vollblutextrakt ist die Enzymaktivität am 6. Tag auf 40% und am 14. Tag auf 53% des Ausgangswertes vermindert. Am 10. Tag zeigt sich eine normale Enzymaktivität der PGM.

(0.8.) Enolase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- ENO rinde	Normal	(12)	22.7 ± 3.9	1.1			
	6. Tag	(5)	9.0 ± 6.2	2.8		< 0.001	(t)
	10. Tag	(5)	12.9 ± 8.2	3.7		0.001-0.005	(t)
	14. Tag	(4)	15.3 ± 1.1	0.5		0.001-0.005	(t)
Vollblut ENO	Normal	(11)	0.7 ± 0.3	0.1			
	6. Tag	(5)	0.4 ± 0.3	0.1		0.025-0.05	(t)
	10. Tag	(5)	0.6 ± 0.3	0.1		0.10-0.20	(t)
	14. Tag	(4)	0.7 ± 0.2	0.1		0.70-0.80	(t)

Die Enolaseaktivität ist während des ganzen Krankheitsverlaufes signifikant vermindert; am 6. Tag auf 40%, am 10. Tag auf 56% und am 14. Tag auf 57% des Normalwertes. Es findet sich also ein vom Maximum der Enzymabfälle, bzw. Minimum der Enzymaktivität ausgehender kontinuierlicher Anstieg der Enzymaktivitäten.

Im Vollblutextrakt läßt sich nur am 6. Tage des Krankheitsverlaufes eine signifikante Verminderung der Enzymaktivität der Enolase auf 57% des Ausgangswertes feststellen.

(0.9.) Pyruvatkinase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- PK rinde [I.E./g Fg]	Normal	(9)	11.8 ± 4.4	1.5			
	6.Tag	(5)	9.4 ± 3.5	1.6	0.50-0.60		(t)
	10.Tag	(5)	7.3 ± 3.1	1.4	0.20-0.30		(t)
	14.Tag	(5)	11.5 ± 6.6	2.9	0.95-0.975		(t)
Vollblut PK [I.E./g Fg]	Normal	(10)	2.4 ± 1.3	0.4			
	6.Tag	(5)	1.6 ± 0.4	0.2	0.20-0.30		(t)
	10.Tag	(5)	1.7 ± 0.7	0.3	0.30-0.40		(t)
	14.Tag	(5)	2.3 ± 1.6	0.7	0.95-0.975		(t)

Die PK-Aktivität bleibt sowohl im Nierenrindenextrakt, als auch im Vollblutextrakt in normaler Höhe.

(0.10.) Laktatdehydrogenase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- LDH rinde [I.E./g Fg]	Normal	(12)	93.5 ± 32.6	9.4			
	6.Tag	(5)	96.6 ± 33.8	15.1	0.80-0.90		(t)
	10.Tag	(5)	82.0 ± 15.0	6.7	0.40-0.50		(t)
	14.Tag	(5)	113.4 ± 48.6	21.7	0.30-0.40		(t)

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Vollblut LDH	Normal	(11)	18.8 ± 7.4	2.2			
[I.E./g Fg]	6.Tag	(5)	17.6 ± 2.6	1.1	0.70-0.80	(t)	
	10.Tag	(5)	19.6 ± 5.7	2.6	0.80-0.90	(t)	
	14.Tag	(5)	22.8 ± 11.0	4.9	0.40-0.50	(t)	

Die LDH-Aktivität bleibt im Nierenrindenextrakt und Vollblutextrakt innerhalb des Normalbereiches.

(1.) Enzyme des Pentosephosphatweges

(1.0.) Glukose-6-phosphatdehydrogenase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- G-6-PDH	Normal	(11)	1.7 ± 0.7	0.2			
niere	6.Tag	(5)	1.2 ± 0.2	0.1	0.10-0.20	(t)	
[I.E./g Fg]	10.Tag	(5)	1.1 ± 0.2	0.1	0.10-0.20	(t)	
	14.Tag	(5)	1.2 ± 0.2	0.1	0.10-0.20	(t)	
Vollblut G-6-PDH	Normal	(7)	1.1 ± 0.6	0.2			
[I.E./g Fg]	6.Tag	(5)	0.8 ± 0.2	0.1	0.24	(ZWV)	
	10.Tag	(5)	0.7 ± 0.2	0.1	1.00	(TWV)	
	14.Tag	(5)	1.1 ± 0.7	0.3	0.98-0.99	(t)	

Die G-6-PDH-Aktivität zeigt im Nierenrindenextrakt und Vollblutextrakt keine signifikanten Veränderungen. Es fällt indes auf, daß im Nierenrindenextrakt die Mittelwerte in allen untersuchten Krankheitsstadien nur bei ca. 70% des Normalwertes liegen. Infolge der hohen Streuung der Normalwerte ist jedoch keine statistisch gesicherte Aussage über einen evtl. Enzymabfall möglich.

(1.1.) 6-Phosphoglukonatdehydrogenase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	6-PGH Normal	(11)	2.1 ± 1.1	0.3			
	6. Tag	(5)	1.5 ± 0.7	0.3		0.20-0.30	(t)
	10. Tag	(4)	1.4 ± 0.2	0.1		0.20-0.30	(t)
	14. Tag	(4)	1.1 ± 0.2	0.1		0.08	(ZWV)
Vollblut [I.E./g Fg]	6-PGH Normal	(10)	0.3 ± 0.2	0.1			
	6. Tag	(5)	0.3 ± 0.2	0.1		0.90-0.95	(t)
	10. Tag	(5)	0.2 ± 0.04	0.02		0.61	(ZWV)
	14. Tag	(5)	0.2 ± 0.01	0.005		0.56	(ZWV)

Die 6-PGH-Aktivität ist - nach kontinuierlichem Abfall der Mittelwerte am 6. und 10. Tag - am 14. Tag des Krankheitsverlaufes signifikant auf 52% des Normalwertes vermindert.

Im Vollblutextrakt zeigt sich keine Verminderung der Enzymaktivität.

(2.) Enzyme des Phosphatstoffwechsels

(2.0.) Myokinase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [I.E./g Fg]	MK Normal	(7)	231 ± 31	12			
	6. Tag	(5)	137 ± 44	19		0.001-0.005	(t)
	10. Tag	(5)	136 ± 61	27		0.005-0.01	(t)
	14. Tag	(5)	191 ± 171	76		1.0	(ZWV)
Vollblut [I.E./g Fg]	MK Normal	(9)	10.4 ± 3.7	1.2			
	6. Tag	(5)	10.8 ± 2.1	1.0		0.80-0.90	(t)
	10. Tag	(5)	12.0 ± 4.1	1.9		0.40-0.50	(t)
	14. Tag	(5)	12.0 ± 1.4	0.6		0.30-0.40	(t)

Die Myokinase-Aktivität ist im Nierenrindenextrakt am 6. und 10. Tag des Krankheitsverlaufes hochsignifikant auf 60% bzw. auf 59% des Ausgangswertes vermindert. Am 14. Tag des Krankheitsgeschehens liegt die Enzymaktivität wieder im Normbereich.

Im Vollblutextrakt bleibt die MK-Aktivität konstant.

(2.1.) Mg^{++}-abhängige Adenosintriphosphatase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- ATPase rinde [I.E./g Fg]	Normal	(9)	94.0 ± 34.0	11.3			
	6.Tag	(5)	40.8 ± 32.2	14.4	0.02-0.025		(t)
	10.Tag	(5)	51.4 ± 35.7	16.0	0.025-0.05		(t)
	14.Tag	(5)	50.4 ± 21.8	9.7	0.025-0.05		(t)
Vollblut ATPase [I.E./g Fg]	Normal	(9)	1.1 ± 0.3	0.1			
	6.Tag	(5)	0.8 ± 0.4	0.2	0.10-0.20		(t)
	10.Tag	(5)	0.8 ± 0.3	0.1	0.10-0.20		(t)
	14.Tag	(5)	0.8 ± 0.1	0.05	0.05-0.10		(t)

Die Mg-abhängige ATP-ase im Nierenrindenextrakt fällt im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis in allen untersuchten Krankheitsstadien signifikant auf 43% (am 6. Tag) bzw. 55% (am 10. Tag) und 54% (am 14. Tag) des Normalbereiches ab.

Auch im Vollblut zeigt sich ein geringer Abfall der ATP-ase-Aktivität auf konstant 73% des Ausgangswertes; am 14. Tag ist dieser Abfall statistisch signifikant.

(2.2.) Alkalische Phosphatase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- AP	Normal	(7)	217 ± 114		43		
rinde	6. Tag	(5)	148 ± 112		50	0.50-0.60	(t)
[Bessey-Lowry-E/g Fg][1]	10. Tag	(5)	34 ± 28		13	0.005-0.001	(t)
[37° C]	14. Tag	(4)	24 ± 16		8	0.02	(ZWV)
Vollblut AP	Normal	(4)	2.8 ± 2.1		1.0		
[Bessey-Lowry-E/g Fg]	6. Tag	(3)	2.5 ± 1.3		0.7	0.80-0.90	(t)
[37° C]	10. Tag	(5)	4.2 ± 2.5		1.1	0.40-0.50	(t)
	14. Tag	(3)	4.0 ± 4.1		2.3	0.40-0.50	(t)

Die unspezifische alkalische Phosphatase zeigt schon am 6. Tag einen Enzymaktivitätsverlust um 44%, der aber noch nicht statistisch signifikant ist. Erst am 10. und 14. Tag ist der Abfall signifikant. Die Mittelwerte liegen am 10. Tag bei 15%, am 14. Tag bei 11% des Ausgangswertes.

Im Vollblut zeigen sich keine Veränderungen der Aktivität der alkalischen Phosphatase.

(2.3.) Saure Phosphatase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- SP	Normal	(8)	37.8 ± 16.3		5.8		
rinde	6. Tag	(5)	22.6 ± 9.2		4.1	0.05-0.10	(t)
[Bessey-Lowry-E/g Fg][1]	10. Tag	(4)	16.8 ± 15.0		7.5	0.05-0.10	(t)
[37° C]	14. Tag	(3)	9.3 ± 7.7		4.4	0.02-0.025	(t)
Vollblut SP	Normal	(10)	36.6 ± 23.9		7.6		
[Bessey-Lowry-E/g Fg]	6. Tag	(5)	24.7 ± 16.8		7.5	0.30-0.40	(t)
[37° C]	10. Tag	(5)	21.1 ± 10.2		4.6	0.10-0.20	(t)
	14. Tag	(5)	34.2 ± 21.7		9.7	0.80-0.90	(t)

1) = [10^{-6}Mol/h/g Fg (37° C)]

Die unspezifische saure Phosphatase zeigt vom 6. Tag an einen hochsignifikanten kontinuierlichen Abfall auf 60% (6. Tag), 44% (10. Tag) und 25% (14. Tag) der Normalwerte.

Im Vollblut ergeben sich keine signifikanten Veränderungen der SP-Konzentration.

3.1.2. Ergebnisse der Nukleinsäurebestimmungen

Die Nukleinsäuren, DNS und RNS, wurden nur im Nierenrindenextrakt bestimmt.

(0.) Desoxyribonukleinsäure (DNS)

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nierenrinde [mg/g Fg] DNS	Normal	(10)	4.08 ± 0.65	0.20			
	6. Tag	(3)	5.80 ± 1.31	0.76	0.005-0.01	(t)	
	10. Tag	(5)	3.28 ± 0.83	0.37	0.05-0.10	(t)	
	14. Tag	(4)	3.03 ± 1.23	0.62	0.05-0.10	(t)	

Der DNS-Gehalt der Nierenrinde zeigt einen uneinheitlichen Verlauf. Am 6. Tag im Verlaufe der Krankheit wird ein um 42% signifikant erhöhter DNS-Gehalt gefunden. Demgegenüber ist der DNS-Gehalt am 10. und 14. Tag nach der krankheitsauslösenden Injektion um 20% bzw. 25% signifikant abgesunken.

(1.) Ribonukleinsäure(RNS)

Tabellarische Übersicht:

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren- rinde [mg/g Fg]	RNS	Normal	(14)	3.50 ± 0.63		0.17		
		6.Tag	(3)	4.17 ± 1.95		1.13	1.0	(ZWV)
		10.Tag	(5)	7.06 ± 6.33		2.83	1.0	(ZWV)
		14.Tag	(4)	6.25 ± 1.91		0.95	1.08	(ZWV)

Der RNS-Gehalt der Nierenrinde im Verlauf der Glomerulonephritis zeigt eine einheitliche ansteigende Tendenz. Ein allerdings nicht signifikanter Anstieg der Mittelwerte findet sich bereits am 6. und 10. Tag der Krankheit. Am 14. Tag der experimentellen Glomerulonephritis ist dieser Anstieg signifikant. Der RNS-Gehalt ist dann auf 173% des Normalwerte angestiegen.

3.1.3. Ergebnisse der Bestimmungen harnpflichter Substanzen im Blutserum

Tabellarische Übersicht:

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Blutserum in [mg%]	HS	Normal	(8)	42.0 ± 5.8		2.0		
		6.Tag	(5)	42.8 ± 11.7		5.2	0.80-0.90	(t)
		10.Tag	(5)	42.2 ± 14.6		6.5	0.975-0.98	(t)
		14.Tag	(5)	70.0 ± 26.8		12.0	0.49	(ZWV)
Blutserum in [mg%]	KR	Normal	(10)	1.17 ± 0.23		0.07		
		6.Tag	(5)	1.08 ± 0.38		0.17	0.60-0.70	(t)
		10.Tag	(5)	1.34 ± 0.15		0.07	0.10-0.20	(t)
		14.Tag		2.18 ± 1.33		0.59	0.51	(t)

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Blutserum PO_4	Normal	(10)	3.18 ± 0.56		0.18		
[mval/l]	6. Tag	(5)	3.88 ± 2.22		0.99	0.50-0.60	(t)
	10. Tag	(5)	3.44 ± 0.67		0.30	0.30-0.40	(t)
	14. Tag	(5)	3.40 ± 0.30		0.13	0.30-0.40	(t)

Beim Harnstoff-, Kreatinin- und Phosphatgehalt im Serum der erkrankten Tiere finden sich in dem bewußt milden Krankheitsverlauf keine signifikanten Veränderungen.

Wohl erhöhen sich am 14. Tage der experimentellen Glomerulonephritis die Mittelwerte der Harnstoff- und Kreatininkonzentrationen im Serum beträchtlich, doch läßt sich wegen der sehr hohen Streuungen keine Signifikanz der Veränderungen nachweisen.

3.2. ERGEBNISSE DER URINUNTERSUCHUNGEN

Der normale Kaninchenurin hat eine schwach saure Reaktion von pH 5-6; Eiweiß, Glukose und Haemoglobin sind mit halbquantitativen Methoden (Teststreifen) nicht nachweisbar. Das spezifische Gewicht liegt zwischen 1.015-1.030 [mg/ml]. - Die mikroskopische Untersuchung des nicht zentrifugierten Urins zeigt nur vereinzelte Epithelzellen und Leukozyten; Erythrozyten sind nicht nachweisbar.

Am 6. Tag des Krankheitsverlaufes hat der Urin einen schwach sauren pH von 5-6. Eine Eiweißausscheidung sowie eine Haemoglobinurie ist nur bei einzelnen Tieren (2 von 5) vorhanden; sie liegt dann an der unteren Grenze der Nachweisbarkeit. Glukose wird nicht ausgeschieden; das spezifische Gewicht liegt im Bereich des Normalen. - Die mikroskopische Untersuchung ergibt eine vermehrte Zahl von Epithelzellen(5-10/ml) und Leukozyten (10-15/ml); bei 2 Tieren finden sich entsprechend der Haemoglobinausscheidung Erythrozyten im Urin (< 100/ml).

Am 10. Tag des Krankheitsverlaufes läßt sich mit Ausnahme eines Tieres eine schwache Eiweißausscheidung (ca. 30 mg%) sowie ein geringer Haemoglobingehalt des Urins nachweisen. Glukose wird nicht ausgeschieden; das spezifische Gewicht liegt im Normalbereich. Der pH des Urins liegt zwischen 5 und 6. - Die mikroskopische Untersuchung zeigt einen Leukozytengehalt von 10 - 20 Leuko/ml Urin, 10 - 20 Epithelien/ml Urin sowie - bis auf eine Ausnahme - einige hundert Erythrozyten/ml Urin.

Am 14. Tag, dem Maximum des Krankheitsverlaufes, kommt es regelmäßig bei allen Tieren zu einer mittelgradigen Eiweißausscheidung von ca. 100 mg% sowie zu einer deutlichen Haemoglobinurie. Eine Glukosurie wurde nur bei einem Tier nachgewiesen. Die Reaktion des Urins liegt mit einem pH von 9 - 7 im alkalischen Bereich; das spez. Gewicht liegt zwischen 1.020 - 1.050 [mg/ml Urin]. - Die mikroskopische Untersuchung ergibt 10 - 20 Leuko/ml Urin, 10 - 20 Epithelien/ml Urin sowie bei allen Tieren eine Erythrozyturie von mehreren hundert Erythrozyten/ml Urin.

3.3. BLUTBILDVERÄNDERUNGEN

3.3.0. Erythrozyten/Retikulozyten/Haemoglobingehalt

Tabellarische Übersicht:

							Test
Blut	Ery	Normal	(12)	4.42 ± 0.57	0.16		
		6.Tag	(5)	4.34 ± 1.69	0.76	1.0	(ZWV)
		10.Tag	(5)	5.48 ± 0.32	0.15	0.005-0.010	(t)
		14.Tag	(5)	5.48 ± 0.82	0.37	0.001-0.005	(t)
Blut	Reti	Normal	(12)	13 ± 4	1		
		6.Tag	(4)	17 ± 11	6	0.30-0.40	(t)
		10.Tag	(5)	32 ± 23	10	0.01-0.02	(t)
		14.Tag	(4)	21 ± 9	4	0.025-0.050	(t)
Blut	Hb	Normal	(12)	11.6 ± 1.3	0.4		
		6.Tag	(4)	11.6 ± 1.0	0.5	0.95-0.975	(t)
		10.Tag	(4)	12.1 ± 0.7	0.3	0.40-0.50	(t)
		14.Tag	(5)	12.8 ± 0.4	0.2	0.05-0.10	(t)

Das rote Blutbild im Verlaufe der experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens zeigt am 10. und 14. Tag, dem Maximum der Erkrankung, einen eindeutigen, statistisch zu sichernden Anstieg der Erythrozytenzahl mit entsprechendem Anstieg der Retikulozytenzahl und des Haemoglobingehaltes (am 10. Tag ist letzterer zwar im Mittelwert erhöht, doch nicht statistisch zu sichern).

3.3.1. Leukozytenzahl - absolute Eosinophilenzahl

Tabellarische Übersicht:

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Blut	Leuko	Normal	(11)	6.600 ± 1.800		600		
		6. Tag	(5)	11.800 ± 2.500		1.600	0.001-0.005	(t)
		10. Tag	(5)	9.300 ± 2.700		1.200	0.025-0.050	(t)
		14. Tag	(5)	9.000 ± 1.400		.600	0.025-0.050	(t)
Blut	Eo	Normal	(9)	90 ± 40		10		
		6. Tag	(4)	2.900 ± 1.200		600	-	
		10. Tag	(5)	3.400 ± 1.300		600	-	
		14. Tag	(5)	1.700 ± 1.300		600	-	

Die Leukozytenzahl ist in allen Krankheitsstadien signifikant erhöht.

Die absolute Eosinophilenzahl zeigt einen außerordentlich starken Anstieg, dessen Maximum am 10. Tag der Erkrankung liegt.

3.3.2. Differentialblutbilder

1.) Färbung nach Pappenheim

Tabellarische Übersicht:

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Blut	Sgm	Normal	(12)	48.5 ± 12.5		3.5		
		6. Tag	(5)	46.0 ± 18.5		8.5	0.70-0.80	(t)
		10. Tag	(5)	36.5 ± 12.5		5.5	0.05-0.10	(t)
		14. Tag	(5)	33.0 ± 11.0		5.0	0.025-0.05	(t)

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Blut	Lympho	Normal	(12)	47.0 ± 12.5		3.5		
		6.Tag	(5)	51.0 ± 18.5		8.5	0.60-0.70	(t)
		10.Tag	(5)	60.0 ± 13.0		6.0	0.05-0.10	(t)
		14.Tag	(5)	65.5 ± 10.5		5.0	0.01-0.02	(t)
Blut	Mono	Normal	(12)	3.5 ± 2.0		0.5		
		6.Tag	(5)	3.0 ± 1.0		0.5	0.50-0.60	(t)
		10.Tag	(5)	2.0 ± 1.5		0.5	0.05-0.10	(t)
		14.Tag	(5)	2.0 ± 2.0		1.0	0.05-0.10	(t)

Das nach Pappenheim gefärbte Differentialblutbild entspricht am 6. Tag noch dem der Normaltiere. Am 10. Tag und 14. Tag im Laufe der Erkrankung ergibt sich eine Verschiebung in Richtung einer absoluten Lymphozytose sowie eines prozentualen Abfalls der Monozyten und segmentkernigen Granulozyten[1)]. Dabei handelt es sich um eine relative Monozytopenie und Granulozytopenie. Die beschriebenen Veränderungen sind signifikant.

1) Die segmentkernigen Granulozyten wurden nicht in Neutrophile, Basophile und Eosinophile differenziert, da einerseits infolge der sehr groben Granulierung der neutrophilen Granulo. eine Differenzierung zwischen Neutrophilen und Eosinophilen kaum exakt möglich ist, andererseits der Eosinophilenanteil als absolute Eosinophilenzahl ermittelt wurde.

2.) Färbung zur Darstellung der alkalischen Leukozytenphosphatase

Tabellarische Übersicht:

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Blut Lympho + Mono	Normal	(12)	52.0 ± 14.0	4.0			
	6. Tag	(3)	44.5 ± 14.0	8.0	0.40-0.50		(t)
	10. Tag	(5)	52.0 ± 15.5	7.0	0.98-0.99		(t)
	14. Tag	(5)	68.5 ± 11.0	5.0	0.025-0.05		(t)
Blut Sgm$^+$	Normal	(12)	43.0 ± 13.0	4.0			
	6. Tag	(3)	43.0 ± 17.5	10.0	0.975-0.98		(t)
	10. Tag	(5)	30.0 ± 19.0	8.5	0.10-0.20		(t)
	14. Tag	(5)	22.0 ± 14.5	6.5	0.01-0.02		(t)
Blut Sgm$^-$	Normal	(12)	5.0 ± 2.0	0.5			
	6. Tag	(3)	12.5 ± 4.0	2.0	<0.001		(t)
	10. Tag	(5)	17.4 ± 5.0	2.0	<0.001		(t)
	14. Tag	(5)	9.5 ± 4.5	2.0	0.01-0.02		(t)

Bei der Färbung des Blutausstriches zur Darstellung der alkalischen Leukozytenphosphatase zeigt sich ein starker hochsignifikanter Anstieg des prozentualen Anteils der segmentkernigen Granulozyten mit negativen Phosphatasereaktionen in allen untersuchten Stadien der Glomerulonephritis. Entsprechend findet sich weiterhin ein Abfall der positiv reagierenden segmentkernigen Granulozyten, der allerdings erst am 14. Tage des Krankheitsverlaufes signifikant ist.

3.4. ERGEBNISSE DER PROTEINBESTIMMUNGEN

Tabellarische Übersicht:

			n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P(2α)	Test
Nieren-rinde	Pg	Normal	(11)	0.219 ± 0.044		0.013		
		6. Tag	(5)	0.199 ± 0.044		0.019	0.40-0.50	(t)
		10. Tag	(5)	0.263 ± 0.109		0.048	0.20-0.30	(t)
		14. Tag	(5)	0.184 ± 0.063		0.028	0.10-0.20	(t)
Blut	Pg	Normal	(10)	0.482 ± 0.181		0.057		
		6. Tag	(5)	0.545 ± 0.070		0.031	0.40-0.50	(t)
		10. Tag	(4)	0.552 ± 0.054		0.027	0.40-0.50	(t)
		14. Tag	(5)	0.508 ± 0.089		0.039	0.60-0.70	(t)

Der Eiweißgehalt des Vollblutextraktes und des Nierenrindenextraktes zeigt während des Krankheitsverlaufes keine signifikanten Veränderungen.

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

4.0. AUFGABE

Betrachtet man die Literatur über die experimentelle Glomerulonephritis der jüngeren Zeit, so wird deutlich, daß sich die Aktivität der Forschung vornehmlich auf zwei Gebiete konzentriert hat; nämlich einerseits auf die Immunologie der Nephritis, andererseits auf die biochemischen Veränderungen im Verlauf der Erkrankung. Während die immunologischen Untersuchungen sich die Klärung der Auslösung der Krankheit zum Ziele gesetzt haben, versuchen die biochemischen Untersuchungen die pathogenetische Entwicklung, als Folge der Auslösung, im Zellstoffwechsel, zu durchleuchten, mit dem Ziele die Störungen der physiologischen Funktionen bei der experimentellen Glomerulonephritis dadurch zu erklären. [1)]
Die vorliegende Arbeit will einen Beitrag zur letzteren Fragestellung liefern.

[1)] Die Brücke zwischen diesen beiden Strömungen der Glomerulonephritis-Forschung bildet die Frage, auf welche Weise immunologische Reaktionen eine Beeinflussung und Umsteuerung des zellulären Stoffwechsels hervorrufen können. Experimentelle Ansätze zur Lösung dieser Frage sind bisher nicht gemacht worden.

4.1. MORPHOLOGISCHE UND BIOCHEMISCHE ORGANISATION DES NEPHRONS

4.1.0. Zelluläres Strukturschema

Nach BÜCHER, Th. et al. [53] sowie VOGELL, W. et al. [386] und DELBRÜCK, A. et al. [80] [81] lassen sich im Gewebsverband distinkte Räume (compartments) abgrenzen, die sich durch eine spezifische Stoffwechselaktivität auszeichnen, durch Membranen voneinander getrennt sind und sich durch spezielle Ultrastrukturen auszeichnen.

(0.) Zellräume

1. Extrazellulärer Raum (E-Raum)

Der E-Raum ist definiert als der das Parenchym und Mesenchym (interstitielles Bindegewebe) umgebende, flüssigkeitsgefüllte Raum. Vom intrazellulären Raum ist er durch die Zellmembran abgegrenzt. Er weist kaum Enzymaktivitäten auf, insbesondere keine wesentliche Aktivität an wasserstoffübertragenden Fermenten. Mit dem intrazellulären Raum steht er durch einen Metabolitenaustausch in Verbindung; dieser betrifft vornehmlich ungeladene Substrate und einbasige Karbonsäuren. Der E-Raum ist frei von phosphorylierten Metaboliten.

2. Kern-Raum (K-Raum)

Der K-Raum ist definiert als der innerhalb des Zellkerns gelegene Raum. Gegen das Zytoplasma ist er durch eine Doppelmembran abgegrenzt. Mit dem C-Raum steht er durch Poren in dieser Membran (über das endoplasmatische Retikulum) in Verbindung.

3. Mitochondrialer Raum (M-Raum)

Der M-Raum ist definiert als der innerhalb der Mitochondrien gelegene, durch die Cristae mitochondriales in verschiedene Abteilungen gegliederte Raum, der durch eine durchgehende Doppelmembran vom Zytoplasma ge-

trennt ist. Mit diesem steht er in keinem direkten Kontakt, sondern er ist mit dem C-Raum nur durch aktive, enzymatische Transportmechanismen verbunden.

4. Zytoplasmatischer Raum (C-Raum)

Der C-Raum ist definiert als die Summe aller zytoplasmatischen Bestandteilen einschließlich der submikroskopischen Organellen mit Ausnahme der Mitochondrien. Er umfaßt also je nach Zelltyp verschiedene Strukturen.

(1.) Grenzflächen

Der C-Raum ist gegen die anderen Kompartimente der Zelle durch eine Reihe von z.T. stoffwechselaktiven Membranen abgegrenzt. Es sind diese:

1. Kernmembran - Abgrenzung gegen den K-Raum
2. Mitochondrienmembran - Abgrenzung gegen den M-Raum
3. Zellmembran - Abgrenzung gegen den E-Raum

zu 1. Die Kernmenbran besteht aus einem inneren und äußeren Blatt, zwischen denen sich der perinukleäre Raum befindet. Die beiden Blätter verschmelzen an eineigen Stellen und bilden die, für den Stoffaustausch zwischen C-Raum und K-Raum wichtigen Poren. Das äußere Blatt ist z.T. mit Ribosomen besetzt und kommuniziert mit dem Membransystem des endoplasmatischen Retikulums.

zu 2. Die ebenfalls aus zwei Lipoproteinmembranen aufgebaute Mitochondrienmembran (Innenblatt und Außenblatt) mit ihren kontinuierlichem Übergang in das intramitochondriale Membransystem stellt eine lückenlose Abgrenzung des M-Raumes gegen den C-Raum dar.

zu 3. Die Zellmembran besteht aus einer einzelnen Lipoproteinschicht; am apikalen Teil der Nierenepithelien finden sich. z.T. sehr reichlich in Form eines Bürstensaumes, Mikrovilli sowie pinocytotische Einstülpungen. Im lateralen und basalen Teil der Zellen befinden sich intrazytoplasmatische Einstülpungen, deren Häufigkeit und Tiefe im Verlauf des Nephrons erhebliche Unterschiede aufweist (siehe ERICSSON, J.L.E. [112]):

Dichte und Höhe Struktur	Bürstensaum	Laterale Einfaltungen	Basale Einfaltungen
Hauptstück			
pars recta	+++[1]	+	+
pars contort.	+++	++	++
Überleitungsstück	±	+	+
Mittelstück			
pars recta	+	+	+++
pars contort.	+	+	+++
Sammelrohre			
dunkle Zellen	+	+	+
helle Zellen	+	+	++

(2.) Spezifische Strukturen

Der Zellkern zeigt in allen Abschnitten des Nephrons einheitlich die bekannte submikroskopische Struktur; seine Form ist rund bis leicht oval.

Die Mitochondrien (M-Raum) variieren in Bezug auf Größe, Zahl, und intramitochondrialem Strukturreichtum in den verschiedenen Abschnitten des Nephrons erheblich (ERICSSON, J.L.E. [112]):

	Zahl	Form/Größe	Struktur
Hauptstück			
Pars cont.	sehr reichl.	langgezogen, groß	reichlich Cristae
Pars recta	reichlich	klein, länglich	weniger Cristae
Überleitungsstück	wenig	oval, klein	gering Cristae
Mittelstück			
Pars recta	sehr reichl.	langgezogen, groß	reichlich Cristae
Pars cont.	reichlich	langgezogen, groß	reichlich Cristae
Sammelrohr			
dunkle Zellen	reichlich	oval, mittelgroß	zahlreiche Cristae
helle Zellen	wenig	rund-oval, klein	wenig Cristae

1) +++ = reichlich hohe Mikrovilli bilden deutlichen Bürstensaum; sehr zahlreiche ausgeprägte und teif reichende intrazytoplasm. Einstülpungen
++ = reichl. tiefe intrazytoplasmatische Einstülpungen
+ = einzelne kurze Mikrovilli bzw. intrazytoplasmatische Einfaltungen
± = nur selten und vereinzelt vorkommende Mikrovilli

Die Strukturen des zytoplasmatischen Raumes (C-Raum) verhalten sich im Verlauf des Nephrons in Vorkommen und Häufigkeit unterschiedlich. Das Endoplasmatische Retikulum ist insgesamt spärlich ausgebildet und frei von Ribosomen; es spielt aber vermutlich eine Rolle bei der funktionellen Verbindung der verschiedenen Organellen.

	ER	Cytosomen [1]	GOLGI-App.	Vesiculae
Hauptstück				
Pars cont.	+ [2]	++	+	++
Pars recta	+	+	+	+
Überleitungsstück	(+)	(+)	=	-
Mittelstück				
Pars recta	+	++	+	++
Pars con.	+	++	+	++
Sammelrohr				
dunkle Zellen	++	+	+	+
helle Zellen	(+)	+	+	+

4.1.1. Lokalisation der Enzyme und Substrate

Um eine funktionelle Interpretation von Änderungen im Metabolitengehalt und der Enzymaktivitäten zu geben, ist es nötig, die Verteilung der Fermente un Substrate in den verschiedenen Zellräumen einerseits und in den einzelnen Abschnitten des Nephrons andererseits zu kennen. [3]

---

[1] Cytosomen, Cytosegrosomen und Vesiculae entsprechen einem Teil der biochemisch definierten Lysosomen (Reichtum an sauren Phosphatasen). Zur Gruppe der Lysosomen gehören weiterhin: pinocytotische Vakuolen und dens bodies (residual bodies) (vgl. dazu DUVE, C de [J; DUVE, C. de et al. [ ] und NOVIKOFF, A. B. [J)

[2] (+) = vorhanden, aber sehr selten
+ = vorhanden
++ = reichlich vorhanden

[3] Die Verteilung in den verschiedenen Zellräumen ist aus Untersuchungen mit der Technik der fraktionierten Zentrifugation (siehe DUVE, C. de et al. [99]) bekannt; die Verteilung im Verlauf des Nephrons ergibt sich aus den Mikrodissektionsuntersuchungen und der Histochemie.

(0.) Enzyme des C-Raumes

Die untersuchten Enzyme aus dem Pentose-Phosphat-Weg (G-6-PDH und 6-PGH) finden sich nach den Untersuchungen von NEWBURGH, P. W. et al. [277] ausschließlich im C-Raum und zwar im Überstand der fraktionierten Zentrifugation. Sie sind also nicht an zytoplasmatische Strukturen gebunden. Diese auf Grund biochemischer Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse stehen im Gegensatz zu der histochemischen Darstellung der beiden Enzyme, die diese in partikulärer Form zeigen (vgl. dazu PEARSE, A. G.E. [291]). Ebenfalls im C-Raum befinden sich sämtliche Enzyme des glykolytischen Abbauweges und zwar im Überstand der fraktionierten Zentrifugation (siehe JOHNSON, M. K. [171]) in einer Höhe von ca. 80 - 90% der Aktivitäten des Gesamthomogenates. Ausnahmen davon bilden die Hexokinase und die Phosphoglukomutase. Die Hexokinase ist zu einem erheblichen Prozentsatz an die Mitochondrien (MRaum) gebunden (68% in der Rattenniere), siehe dazu die Untersuchungen von CRANE, R. K. et al. [75](Rattengewebe) und HERS, H. G. et al. [158] (Meerschweinchen-Leber und Kaninchenniere). Gänzlich an mikrosomale Membranen[1] gebunden, d. h. auch dem C-Raum zugehörig ist die Phosphoglukomutase (siehe DUVE, C. de [101]). (zur glykolytischen Aktivität der Zellkerne siehe Abschnitt 4.2.2.) Auch die saure unspezifische Phosphohydrolase-Aktivität ist in dem C-Raum zu lokalisieren. Sie ist gebunden an die Lysosomen, sowie zum Teil auch an den GOLGI-Apparat, der mit den Lysosomen möglicherweise in funktioneller Beziehung steht; (siehe dazu STRAUS, W. [359] [360] [361] und ALLARD, C. et al. [4]).

Die Saure Thiaminpyrosphosphatase stellt sich histochemisch als vorwiegend an den Bürstensaum gebunden dar (neben der Kernaktivität). Möglicherweise ist sie aber ebenfalls zum Teil dem C-Raum zuzurechnen. Untersuchungen

---

[1] Die mikrosomale Fraktion der Nierenrinde besteht neben den Fragmenten des endoplasmatischen Retikulums vornehmlich aus den Zellmembranen (Mikrovilli und basale Einfaltungen), so daß die Phosphoglukomutase möglicherweise auch den membrangebundenen Enzymen zugerechnet werden muß.

über dieses Enzym mittels der fraktionierten Zentrifugation liegen nicht vor.
Die Myokinaseaktivität verteilt sich in der Rattenleber zu je 50% auf den C-Raum und den M-Raum (siehe Abschnitt 4.2.1.).

(1.) Enzyme des M-Raumes
In der Rattenniere findet sich nach den Untersuchungen von HERS, H. G. et al. [158] 32% der Hexokinase-Aktivität des Gesamthomogenates in der Mitochondrienfraktion. Die Funktion des Enzyms an diesem Ort ist bislang ungeklärt.
Die Myokinaseaktivität verteilt sich ebenfalls auf den C-Raum und den M-Raum (siehe dazu NOVIKOFF, A. B. et al. [282]; die prozentualen Anteile in den beiden Räumen variieren bei verschiedenen Gewebsarten außerordentlich stark; in der Rattenleber findet sich je die Hälfte der Aktivität im Überstand und in der Mitochondrienfraktion bei der fraktionierten Zentrifugation.
Als Teil der Atmungskette ist die Bersteinsäuredehydrogenase ausschließlich im M-Raum nachweisbar; dies ist sowohl biochemisch (fraktionierte Zentrifugation) als auch histochemisch (licht- und elektronenoptisch) nachgewiesen. (siehe dazu WHITTAKER, V. P. [408] und PEARSE, A. G. E. [292]).
Ein weiteres Enzym des M-Raumes ist die ATPase. Nach den Untersuchungen von WHEELER, K. P. et al. [406] ist es in der Kaninchennierenrinde zu ca. 17% der Gesamtaktivität in der Mitochondrienfraktion zu finden; demgegenüber gibt DUVE, C. de et al. [101] einen Prozentsatz von mindestens 50% an. Lokalisiert ist das Enzym nach elektronenmikroskopisch-histochemischen Untersuchungen in der Matrix der Mitochondrien (siehe LAZARUS, S. S. et al. [221] GOLDFISCHER, S. et al. [139]). Eine Zusammenstellung der biochemischen Eigenschaften der verschiedenen ATPasen gibt die Tabelle 7.

TABELLE 7: Charakterisierung der ATPasen der Säuger-Nierenrinde (nach den Angaben von FISCHER, F. et al. [117], HORI, H. S. et al. [169], KINSOLVING, C. R. et al. [191], ERICSSON, J.L. E. et al. [112], WACHstein, M. et al. [391], GOLDFISCHER, S. et al. [139], LAZARUS, S. S. et al. [221], WACHSTEIN, M. et al. [390], WHEELER, K. P. et al. [406] [407], LANDON, E. [212] und LANDON, E. et al. [214] zusammengestellt).

	Membranfraktion	Mitochondrienfraktion	Kernfraktion ATPase A	Kernfraktion ATPase B
Anteil an der Gesamtaktivität	ca. 37%	ca. 13%	Σ ca. 50%	
Hemmung	Pb^{2+} Glutaraldehyd NaCN Ouabain Na-Mercaptopurin Na-Meralluride Phlorrizin Phloretin Ologomycin p-Chloromercuribenzoat-Na	NaN_3 p-Chlorobenzoat p-Chlormercuribenzoat-Na N-äthylmaleinimid Formalin Äthanol ADP	-	Zn^{2+}
Aktivierung	Na^+ K^+ Mg^{2+} Ca^{2+}	Mg^{2+} 2.4.Dinitrophenol Formamidindisulfid	Mg^{2+}	Ca^{2+}
Ohne Einfluß	Formalin ADP Äthanol 2.4.Dinitrophenol NaN_3	Ouabain Ca^{2+} NaCN, KCN, NaF Phlorrizin Phloretin	Ca^{2+} Zn^{2+},Mn^{2+} 2.4.Dinitrophenol	Mg^{2+}
pH-Opt.	7.5		5.9	6.4

(2.) Enzyme des K-Raumes

Ein erheblicher Teil der Gesamt-ATPase-Aktivität findet sich in der Kernfraktion (50% nach den Untersuchungen von WHEELER, K. P. et al. [407]). FISCHER, F. et al. [117] haben in der Kernfraktionder Schweineniere zwei verschiedene ATPasen differenziert. Die biochemischen Eigenschaften dieser beiden ATPasen und ihre Differenzierung gegenüber der Membran-ATPase und der mitochondrialen ATPase finden sich in der folgenden Tabelle (7).

Nach den Angaben von LANG, K. et al. [215] ist in isolierten Zellkernen eine geringe glykolytische Aktivität festzustellen, von der möglicherweise ein Teil der Energie für den Kernstoffwechsel geliefert wird. Von ROODYN, D. B. [316] [317] [318] wurde im Zellkern eine meßbare Aktivität der Aldolase festgestellt. Ob diese im Zellkern gebildet wird oder durch die Poren der Kernmembran aus dem Zytoplasma in den Kern diffundiert, wird von SIEBERT, G. et al. [347] und RODDYN, D. B. [319] diskutiert.

Nach den eigenen histochemischen Untersuchungen ist auch die saure Thiaminpyrophosphatase in hoher Aktivität im Kern.

(3.) Membrangebundene Enzyme

Unter membrangebundenen Enzymen sollen hier die an die Zellmembran, einschließlich der Mikrovilli des Bürstensaumes sowie der lateralen und basalen Einstülpungen, gebundenen Enzyme verstanden werden.

Die alkalische Phophatase ist licht- und elektronenoptisch im Bürstensaum, bzw. den Mikrovilli, auf der Oberfläche der Zellmembran lokalisiert. Ob bei der normalen Niere auch die basalen Einstülpungen eine Reaktion zeigen ist unklar, da unterschiedliche elektronenoptische Ergebnisse erzielt wurden (siehe MÖLBERT, R. G. et al. [262], MÖLBERT, E. et al. [263] und REALE, E. [311]). Bei biochemischen Untersuchungen findet sich die alkalische Phosphohydrolase fast ausschließlich in der Mikrosomenfraktion, die vorwiegend aus den Trümmern der Zellmembran besteht (siehe HERS, H. G. et al. [158] und KALLMANN, F. G. [174]).

Die Adenosintriphosphatase findet sich ebenfalls in der Zellmembran (Bür-

stensaum, laterale und basale Einstülpungen). Elektronenoptische Untersuchungen liegen von ERICSSON, J. L. E. [112], SPATER, H. W. et al. [355] sowie KAPLAN, S. et al. [176] vor.
Die Saure Thiaminpyrophosphatase ist nach der histochemischen Darstellung ebenfalls im Bürstensaum, bzw. der apikalen Zellmembran lokalisiert.

(4.) Verteilung der Enzyme im Verlauf des Nephrons

Die Verteilung der Enzyme im Verlauf des Nephrons ist aus Untersuchungen mit qualitativer und quantitativer histochemischer Methodik, sowie aus den Ergebnissen der Massenisolierung bekannt. Insgesamt wurden von den hier betrachteten Enzymen die folgenden untersucht: Phosphatasen: AP, SP, ATPase; Enzyme des Kohlehydrat-Stoffwechsels: HK, ALD, GAPDH, PK, LDH, G-6-PDH, 6-PGH; Enzyme der Endoxydation: SDH. Eine Übersicht über die histochemische Lokalisation der hier betrachteten Enzyme, soweit untersucht, gibt HESS, R. [159]; die folgende Tabelle entstammt den Angaben dieser Arbeit und deckt sich in Bezug auf die Lokalisation von AP, SP mit den eigenen Arbeiten, während sich die SDH in der Kaninchenniere, auch im geraden Teil der Hauptstücke und den Überleitungsstücken nachweisen läßt.

TABELLE 8: Histochemischer Enzymnachweis in der Rattenniere

	G	H	Hr	U	M	S-I [1]	S-II [2]
AP	±	3	3	0	0	0	0
SP	±	2	3	2	1	1	1
ATPase	3	3	3	2	0	0	0
SDH	0	3	0	0	3	2	0
LDH	1	2	3	1	3	1	1
G-6-PDH	0	0	1	0	1	3 [3]	0

1) Kortikaler Teil der Sammelrohre
2) Medullärer Teil der Sammelrohre
3) Macula densa

Die differenziertesten und genauesten Angaben liefern dagegen die Untersuchungen die mittels der Methode der Mikrodissektion gemacht wurden. Solche Untersuchungen wurden an den Nieren der Ratte, des Kaninchens, des Hundes, des Affen und an der menschlichen Niere durchgeführt. (Siehe BONTING, S. L. et al. [33] [36], POLLAK, V. E. et al. [303] [304] und MATTENHEIMER, H. et al. [249]). Werte für das Kaninchen liegen für die AP und LDH (siehe BONTING, S. L. et al. [37][38], POLLAK, V. E. et al. [305]) sowie, nach den Untersuchungen von PHILIPPSON, Chr. [299][1)] für die HK, ALD, GAPDH und PK vor.

BONTING, S. L. et al. [37] [38] legten vergleichende Untersuchungen für die Enzyme alkalische Phosphatase und Laktatdehydrogenase bei verschiedenen Säugetieren vor. Dabei zeigte sich wohl eine weitgehende Identität der Enzym-Muster im Verlauf des Nephrons, die absoluten Werte aber differierten recht erheblich. Zum Teil beträchtliche Schwankungen in den angegebenen Werten für die Enzymaktivitäten finden sich auch bei verschiedenen, unabhängigen Untersuchern.

Eine Übersicht über die Lokalisation der AP, SP, ATPase und LDH in der menschlichen Niere gibt die folgende Tabelle:

TABELLE 9: Enzymmuster der menschlichen Niere[2)]

	AP		SP		ATPase		LDH	
	quant.	qual.	quant.	qual.	quant.	qual.	quant.	qual.
Glomerula	0.56	-	4.73	++	1.00	+[3)]	106	+
Hauptstücke	5.48	+++	1.80	+	2.44	++	261	+++
Mittelstück	2.67	-	1.50	+	3.20	+	261	+++
Markstrahl	2.84	-	2.99	+	2.71	+	227	+
Außenstreifen	0.81	-	1.92	+	3.03	++	200	+
Innenstreifen	1.27	-	1.06	+	2.10	+	130	+
Papille	1.38	-	0.95	++	1.40	-	156	+
Gefäße	1.12	-	1.14	-	3.98	+	131	
Kapsel	0.18	-	-		0.15	-	-	

1) Die von PHILIPPSON, Chr. angegebenen Werte konnten nur relativ ungenau zitiert werden, da sie nur in Diagrammform, ohne Angabe von Streuungen veröffentlicht sind.

2) Nach den Angaben von BONTING, S. L. et al. [36] [37] [38] und POLLAK, V. E. et al. [303]. Einheit: MolSubstratumsatz/h/kg Tg (37° C)]

3) ATPase histochemisch im Rattenglomerulum: ++++

Die Tabelle gibt einen Überblick über das Maximum der Enzymaktivitäten im Nephronverlauf nach den Angaben verschiedener Autoren und bei Verwendung von verschiedenen Säugetieren. Dabei zeigt sich, daß nach den Untersuchungen von PHILIPPSON, Chr. [299], sich die Verteilung der Hexokinase und der Pyruvatkinase in der Kaninchenniere grundsätzlich anders verhält als die Verteilung dieser Enzyme in der am besten Untersuchten Rattenniere. Während die Hexokinase und die Pyruvatkinase in der Kaninchenniere eindeutig in den Glomerula ihre höchste Aktivität aufweisen, finden sich in der Rattenniere die größten Aktivitäten im Tubulusanteil des Nephrons. Da die Hexokinase eines der die Geschwindigkeit des Substratdurchflusses durch den glykolytischen Abbauweg begrenzenden Enzyme ist kommt diesem Befund eine besondere Bedeutung zu.

(5.) Verteilung der Metabolite

Von den untersuchten Metaboliten kommen die nicht phosphorylierten Substrate des glykolytischen Abbauweges (Glukose, Pyruvat und Laktat) im extrazellulären und intrazellulären Raum vor (BÜCHER, Th. et al. [53]). Nach den Untersuchungen von HOHORST, H. J. et al. [165] an der Rattenleber liegen die Konzentrationen von Laktat und Pyruvat im Extrazellulärraum im Bereich der Plasmakonzentrationen. Die in der vorliegenden Arbeit bestimmten Gewebsgehalte von Laktat und Pyruvat liegen damit höher als die Gewebskonzentrationen des intrazellulären Raumes.

TABELLE 10: Alkalische Phosphatase und Laktatdehydrogenase der Niere in verschiedenen Säugetieren.[9]

	Alkalische Phosphatase					Laktatdehydrogenase					
	M	A	H	R	K	M	A	H[7]	H[8]	R	K
Gesamt-homog.									88.3		
Glomerula	0.56	0.60	1.90	9.70	1.03	106	55	74	37.2	71	55
Hauptst.	5.48	2.32	10.3	30.9	10.4	261	77	256	149.6	152	83
Mittelst.	2.67	1.10	0.85	7.43	1.46	261	144	356	178.0	231	289
Markstr.	2.82	4.88[1]	0.66	39.7	5.85[1]	227	138	280	108.6	132	170
		1.44[2]			12.5						
Außenstr.	0.81	0.36	2.25	50.1	13.8[5]	200	170	182	-	311[6]	129[5]
					1.4					88[5]	309[6]
Innenstr.	1.27	0.25	0.70	3.65[3]	0.10	130	156	155	-	219[6]	295
				3.20[4]						67[4]	
Papille	1.38	0.50	0.51	3.69	0.13	158	65	87	-	233	181
Arterien	1.12	0.51	0.76	15.3	2.72	131	49	62	-	66	47

1) kortikaler Anteil des Markstrahles
2) iuxtamedullärer Anteil des Markstrahles
3) Dunkle Zellen: HENLEsche Schleife
4) Helle Zellen: Sammelrohre
5) Absteigender Teil der HENLEschen Schleife, Sammelrohre und gerader Teil der Hauptstücke
6) Aufsteigender Teil der HENLEschen Schleife
7) BONTING, S. L. et al. [38]
8) MATTENHEIMER, H. et al. [350]
9) Enzymmuster nach Mikrodissektionsuntersuchungen von BONTING, S. L. et al. [37] [38], POLLAK, V. E. et al. [304] [306] und MATTENHEIMER, H. et al. [250]. Einheit: [Mol/h/kg Tg (37° C)].

TABELLE 11: Verteilung der alkalischen Phosphatase und Laktatdehydrogenase in der normalen Kaninchenniere[1) 2)]

	AP		LDH	
Glomerula	1.3[3)]	305[4)]	55[3)]	89[7)]
Hauptstück	10.4	2450	83	114
Mittelstück	1.46	343	289	472
Markstrahl, kortikale Rinde	5.85	1365	170	276
Markstrahl, iuxtamed.Rinde	12.5	2940		
Außenstreifen	13.8[5)]	3250	129[5)]	210
	1.4[6)]	329	309[6)]	505
Innenstreifen	0.10	23	295	481
Papille	0.13	30	47	77

1) nach den Angaben von BONTING, S.L. et al. [37] und POLLAK, V.E. et al. [306]
2) nach den Angaben von BONTING, S.L. et al. [38]
3) Einheit: [Mol/h/kg Tg (37° C)]
4) Einheit: [10^{-6} Mol /h g Fg (37° C)]
5) absteigender Teil der HENLEschen Schleife, Sammelstück und gerader Abschnitt der Hauptstücke
6) aufsteigender Teil der HENLEschen Schleife
7) Einheit: [10^{-6} Mol/min/g Fg (25° C)]. Umrechnung unter der Voraussetzung der Annahme 1 g Fg = 0.235 g Tg und Q_T 12° C = 2.4

TABELLE 12: Enzymaktivitäts-Verteilung in der normalen Kaninchenniere[1)]

	Glomerula	Tubuli	Mark
HK	98.8	6.58	3.28
ALD	103.5	2.19	8.72
GAPDH	16.4	3.27	1.31
PK	15.3	8.71	4.37
LDH	32.7	219	17.5
AP	920	12600	94.2
SP	47.2	1260	unter 31.5

1) nach den Angaben von PHILIPPSON, Chr. [299]. Einheit: [10^{-6} Mol/min/g Fg (25° C)]; für AP und SP: [10^{-6} Mol/h/g Fg (37° C)] Angaben in der Originalarbeit in 10^{-6} Mol/min/g Pg (25° C)]. Umrechnung unter der Voraussetzung: 1.) 1 g Fg enthält 0.219 g Protein; 2.) $Q_{T\ 12°\,C}$ = 2.4.

TABELLE 13: Maximum der Enzymaktivitäten im Verlauf des Nephrons

Enzym	Struktur	Tier	Methode	Autor
HK	Tu	R[1)]	Md[2)]	DUBACH, U. C. et al. [95]
	G	K	Mi	PHILIPPSON, Chr. [299]
	Tu	R	Mi	NAGANO, M. et al. [273]
	Hr/He/S	H	Md	McCANN, W. P. [60]
PGI	Hr/He/S	H	Md	McCANN, W. P. [60]
ALD	G	K	Mi	PHILIPPSON, Chr. [299]
	G	R	Mi	RICHTERICH, R. et al. [314]
	H/He/S	H	Md	McCANN, W. P. [60]
GAPDH	G	K	Mi	PHILIPPSON, Chr. [299]
PK	G	K	Mi	PHILIPPSON, Chr. [299]
	Tu	R	Mi	NAGANO, M. et al. [272]
LDH	Tu	K	Md	PHILIPPSON, Chr. [299]
	M/He	K	Md	BONTING, S. L. et al. [38]
	Tu	R	Mi	RICHTERICH, R. et al. [314]
	M	R	Md	BONTING, S. L. et al. [38]
	Tu	R	Md	DUBACH, U. C. et al. [95]
	Hr/M	R	Hi	HESS, R. [159]
	Hr	R	Md	KISSANE, J. M. [192]
	A	A	Md	BONTING, S. L. et al. [38]
	H/M	M	Md	BONTING, S. L. et al. [38]
G-6-PDH	G	R	Md	DUBACH, U. C. et al. [95]
	Tu	R	Mi	RICHTERICH, R. et al. [314]
	Tu	R	Mi	NAGANO, M. et al. [272]
	Hr	R	Md	KISSANE, J. M. [192]
	Hr/Md	R	Hi	HESS, R. [159]
6-PGH	Hr	R	Md	KISSANE, J. M. [192]
AP	H	K	Md	BONTING, S. L. et al. [37]
	H	M	Md	POLLAK, V. E. et al. [306]
	Tu	K	Mi	PHILIPPSON, Chr. [299]
	H	R	Md	DUBACH, U. C. et al. [95]
	Tu	R	Mi	RICHTERICH, R. et al. [314]
	H	R	Md	NOWINSKI, W. W. et al. [284]
	Hr	R	Md	KISSANE, J. M. [192]
	H	R	Md	MATTENHEIMER, H. et al. [250]
	H	H	Md	McCANN, W. P. [60]
	H	H	Md	BONTING, S. L. et al. [37]
	H	A	Md	BONTING, S. L. et al. [37]

[1)] R = Ratte; K = Kaninchen; H = Hund; A = Affe; M = Mensch.
[2)] MD = Mikrodissektion; Mi = Massenisolierung; Hi = Histochemie.

TABELLE 13 f.: Maximum der Enzymaktivitäten im Verlauf des Nephrons

Enzym	Struktur	Tier	Methode	Autor
SP	G	M	Md	BONTING, S. L. et al. [33]
	Hr	R	Hi	HESS, R. et al. [159]
ATPase	M	M	Md	BONTING, S. L. et al. [33]
	G/H	R	Hi	HESS, R. [159]
SDH	T	R	Mi	SCHAFROTH, P. et al. [336]

4.2. KRITIK DER METHODE

4.2.0. Aufarbeitungsmethoden[1)]

Die außerordentlich differenzierte Struktur der Niere, insbesondere der Nierenrinde, bedingt die Schwierigkeit biochemischer Untersuchungen am Gesamthomogenat oder Nierenscheiben physiologisch zu interpretieren. Um diese Schwierigkeiten zu bewältigen wurde in den letzten 15 Jahren die Methode der Mikrodissektion[2)] von verschiedenen Arbeitsgruppen (siehe Abschnitt 1.1.) entwickelt. Diese Methode hat den Vorteil genaue Enzymaktivitäten ganz bestimmten Zelltypen zuzuordnen. Diese Methode hat den weiteren Vorzug, der für die Enzymaktivität schonendsten Präparation (Aktivitätsmessung an gefriergetrockneten Schnitten bzw. Teilen davon). Wie aus einer verschiedene Gewebsaufarbeitungsmethoden vergleichende Studie von BONTING, S. L. et al. [39], die die Enzyme AP und LDH betrifft, hervorgeht, liegen die Werte der Messungen am POTTER-ELVEHJEM-Homogenat bei 17% (AP) und 32% (LDH) der an gefriergetrockneten Schnitten gemessenen Werte. Ihr Nachteil ist der sehr große Zeitaufwand, sowie die Unmöglichkeit mit dieser Methode die labilen Substrate des Intermediärstoffwechsels quantitativ zu bestimmen. Die Dynamik des Zwischenstoffwechsels ist jedoch erst dann definiert, wenn neben den Enzymaktivitäten auch die Metabolitenkonzentrationen bestimmt sind. - Die experimentelle Glomerulonephritis wurde mittels dieser Methode von GREGOIRE, F. et al. [146] [147] an der Ratte untersucht; die nephrotische Verlaufsform der Erkrankung bei der Ratte wurde von DUBACH, U. C. et al. [86] [87] [91] [93] [94] [96] bearbeitet. Verlaufsuntersuchungen fanden dabei nicht statt; es wurden lediglich die Normalwerte mit denen des im Höhepunkt der Erkrankung befindlichen Tieres verglichen.

---

1) Zu diesem Problemkreis siehe auch RICHTERICH, R. [312]

2) Übersicht über die ultramikrochemische Technik der Methode siehe bei POLLAK, V. E. et al. [306]

Um die technischen Schwierigkeiten und den extremen Zeitaufwand zu umgehen wurde von RICHTERICH, R. et al. [313] [314] eine Methode zur Massenisolierung von Glomerula und tubulären Elementen entwickelt[1]. Neben dem Verlust der Differenzierung in der Gruppe der tubulären Elemente haftet dieser Methode der Nachteil an, daß infolge der Anwendung von mehreren Zentrifugationen (vor der eigentlichen Analyse) eine Enzymaktivierung und Enzymverlust nicht ganz ausgeschlossen werden kann. Auch bei dieser Methode ist eine parallele Bestimmung der Substrate nicht möglich. Die experimentelle Glomerulonephritis wurde mittels dieser Arbeitsweise von FRANZ, H. E. et al. [123] untersucht (Versuchtier: Ratte).

Neben dem Problem die Enzymaktivitäten den einzelnen Nephronabschnitten zuzuordnen, besteht die Frage nach der intrazellulären Lokalisation derselben. Dieses Problem wurde mittels der fraktionierten Zentrifugation gelöst. Eine weniger aufwendige Methode liefert die fraktionierte Extraktion, bei der hintereinandergeschaltete Stufen zunehmender mechanischer und osmotischer Destruktion verschiedene Zellräume extrahieren. (siehe dazu DELBRÜCK, A. et al. [80] [81], VOGELL, W. et al. [386] und PETTE, D. et al. [298]). Dabei sind die Enzyme den folgenden Extraktionstypen zuzuteilen (siehe BRANDAU, H. et al. [42]):

Typ I : ausschließlich extramitochondrial lokalisiert (C-Raum und K-Raum) (= Enzyme des glykolytischen Abbauweges; Enzyme des Pentose-Phosphat-Shunts).

Typ II : ausschließlich intramitochondrial lokalisiert (M-Raum) (= SDH)

Typ III : Enzyme die nach ihrem Extraktionsverhalten sowohl intra- wie auch extramitochondrial lokalisiert sind. (ATPase, MDH, NADH-abhängige ICDH)

Diese beiden Verfahren haben den Vorzug, daß infolge der getrennten Gewinnung der Enzyme des C-Raumes und des M-Raumes eine gegenseitige Beeinflussung der Enzymaktivitäten nicht stattfinden kann (siehe dazu SCHMIDT, E. et al. [338]).

Untersuchungen mit dieser Methode, angewandt auf die Kaninchenniere

---

[1] Weitere Autorenangaben zur Massenisolierung siehe Abschnitt 1.1.

(normal oder nephritisch), sind nicht bekannt.
Das Gesamthomogenat hat gegenüber den obengenannten Methoden den Nachteil, daß die Ergebnisse weder in Bezug auf die zytologische Zuordnung noch auf die histochemische Lokalisation eindeutige Rückschlüsse zulassen. In erster Näherung kann aus vergleichenden Untersuchungen durch Analogieschlüsse jedoch auf die zytologische Zuordnungen der Enzyme auf die Zellräume geschlossen werden.
Auch die histochemische Zuordnung gelingt nur in grober Annäherung (siehe Abschnitt 4.1.2.). Der Vorzug der Methode liegt in dem relativ geringerem Zeitaufwand, der es gestattet verschiedene Stadien der experimentellen Erkrankung zu untersuchen und damit biochemische Verlaufskurven des Krankheitsbildes zu gewinnen. Da ebenfalls am Gesamthomogenat - an mit anderer Methodik gewonnenem Material - die Metabolitengehalte bestimmt werden können, ist eine genauere Analyse des funktionellen Zustandes im Geschehen des Intermediärstoffwechsels möglich.

4.2.1. Enzymlokalisation

In den folgenden Ausführungen soll versucht werden, nach Bestimmungen aus dem Nierenrinden-Gesamthomogenat einzelne Enzyme den verschiedenen Zellräumen einerseits und differenten Nephronabschnitten andererseits zuzuordnen. Dieses Vorhaben ist durch die methodischen Bedingungen eingeschränkt.
Die Zuordnung zu bestimmten Zellräumen ist möglich auf Grund von Untersuchungen mittels der Technik der fraktionierten Zentrifugation. Diese Untersuchungen erfolgten nur zum Teil mit Nierengewebe und davon wieder nur zum Teil mit der Kaninchen-Niere. Die Ergebnisse, die an anderen Gewebsarten und anderen Tierspezies gewonnen wurden, lassen sich aber nur bedingt auf die Kaninchen-Niere übertragen. Für bestimmte Indikator-Enzyme (LDH, SP, ATPase, G-6-PDH, 6-PGH, FPK) liegen Untersuchungen an der Kaninchenniere vor. Grundsätzlich gelten zusätzlich die Einschränkungen, die die fraktionierte Zentrifugation als methodischer Fehler in sich birgt (siehe da-

zu MAHLER, H. R. et al. [238], DUVE, C. de et al. [101], DUVE, C. de [99]). Insbesondere gelingt eine Zuordnung zu bestimmten Räumen mit dieser Methode dann nicht sicher, wenn das betreffende Enzym in verschiedenen Fraktionen nachzuweisen ist (z. B. ATPasen im Kern, Mitochondrien und Membransystemen verschiedener Natur).
Eine differenzierte Zuordnung von Enzymaktivitäten zu bestimmten Nephronabschnitten aus Analysen des Gesamthomogenates der Nierenrinde ist nicht sicher möglich. Auf Grund des Verteilungsverhältnisses zwischen Glomerula und tubulärem Anteil des Nephrons und unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Ergebnisse der quantitativen Enzym-Histochemie, läßt sich lediglich wahrscheinlich machen, welchem dieser beiden Elemente eine Fermentaktivität beziehungsweise eine Aktivitätsänderung zuzurechnen ist (siehe dazu auch Abschnitt 4.2.2.).

4.2.2. Zusammensetzung des Nierenrinden-Homogenates

Nach Untersuchungen an der Rattenniere besteht der überwiegende Teil des Nierengewebes aus den tubulären Elementen des Nephrons. Zählungen von KUNKEL, P. A. [208], die von RYTAND, D. A. [326] neu berechnet wurden ergaben, daß 1 mg Rattennierengewebe im Mittel 41,28 Glomerula enthält. SMITH, H. W. gibt, ebenfalls für die Rattenniere, an, daß 1 g Nierengewebe 40 mm^3 Glomerula (= 4% des Nierenvolumens) beinhaltet. Beim Nierenrindenhomogenat liegt dieser Anteil des Glomerulumvolumens bzw. -gewichtes sicher höher, dürfte aber, wenn man voraussetzt, daß Nierenrinde und Nierenmark in etwa in gleichen Gewichts- bzw. Volumeneinheiten vorliegen, kaum das doppelte überschreiten. Demzufolge kann man annehmen, daß der Gewichtsanteil der Glomerula im Nierenrindenhomogenat zwischen 8 und 10% liegt, der tubuläre Anteil dagegen 90 bis 92% ausmacht. Diese Verhältnisse dürften auch beim Kaninchen nicht wesentlich anders liegen (siehe dazu auch RICHTERICH, R. et al. [314] [315]). Daraus folgt, daß Enzymveränderungen, die im Gesamthomogenat gemessen werden in erster Linie

Veränderungen im tubulären System zuzuordnen sind. Glomeruläre Enzymveränderungen würden sich im Gesamthomogenat nur dann bemerkbar machen, wenn das Enzym einerseits im Glomerulum selektiv oder zum mindesten in einer gegenüber den tubulären Abschnitten exzessiv hohen Aktivität vorkommt und andererseits die Enzymänderung außerordentlich stark ausgeprägt wäre.

4.3. ERGEBNISSE

4.3.0. Histologischer und histochemischer Verlauf

Wie in Abschnitt 3.0.5. beschrieben, ist der histologische Verlauf der Erkrankung bei allen Tieren weitgehend einheitlich und entspricht in der Verlaufsform und der Art der glomerulären und tubulären Veränderungen dem in der Literatur Beschriebenen (MOENCH, A. [259], MASUGI, M. [244], WACHSTEIN, M. et al. [393]). Im Gegensatz zu den Untersuchungen von WACHSTEIN, M. et al. [393]ist bei der vorliegenden Versuchsreihe der Beginn der Erkrankung frühestens am 6. Tag deutlich. Vorher sind nur bei einzelnen Tieren Veränderungen zu erkennen. Dies mag seine Ursache darin haben, daß WACHSTEIN, M. die empfindlicher reagierenden Albino-Kaninchen zu seinen Versuchen verwendet und diese der doppelten Nephrotoxindosis aussetzt, als dies bei der hier verwendeten Methodik geschehen ist. So berichten WACHSTEIN, M. et al. [393] auch, daß von insgesamt 92 Tieren 18 spontan verstarben (vorwiegend zwischen dem 8. und 16. Tag der Erkrankung). Demgegenüber starben bei der hier verwendeten Kaninchenrasse und Nephrotoxin-Dosis (siehe Abschnitte 2.0. und 2.1.) keine Tiere. Bei der Auswertung der histochemischen Enzymdarstellungen findet WACHSTEIN, M. am 4. Tag die ersten Veränderungen (Verminderung der alkalischen Phosphatase und Bernsteinsäuredehydrogenase); während bei der hier verwendeten Versuchsanordnung eine verminderte Aktivität dieser und der anderen untersuchten Enzyme (saure Phosphatase und saure Thiaminpyrophosohatase) erst am 6. oder 10. Tag zu finden ist. Auch hierfür sind wohl die eben angeführten methodischen Unterschiede verantwortlich.
Im Auftreten der Enzymaktivitätsverluste bei den histochemisch dargestellten Enzymen lassen sich zwei verschiedene Typen aufzeigen. Während die alkalische Phosphatase und in geringerem Ausmaße auch die Bernsteinsäuredehydrogenase in morphologisch unveränderten wie in pathologisch veränderten tubulären Elementen auf dem Höhepunkt der Erkrankung vermindert sind,

findet sich eine deutliche Enzymaktivitätsverminderung der sauren Thiaminpyrophosphatase und der sauren Phosphohydrolase nur in den atrophisch veränderten und den stark erweiterten Tubuli.

4.3.1. Klinischer Verlauf

Der klinische Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens wurde durch Blut- und Urinuntersuchungen kontrolliert.

(0.) Urinbefunde

Die in der vorliegenden Untersuchung erhobenen, nur geringgradigen pathologischen Urinbefunde entsprechen dem bewußt induzierten mildem Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis. Sowohl die Proteinurie als auch die Erythrozyurie sind nur gering. Zylinder finden sich im Urinsediment nicht. Zu einer makroskopisch sichtbaren Verfärbung des Urins kommt es ebenfalls nicht.

Im Gegensatz dazu findet z. B. MÖRS, H. [264] wesentlich ausgeprägtere pathologische Urinbefunde; dieser Untersucher verwendet aber ebenfalls eine wesentliche höhere Dosierung des Antikaninchennieren - Entenserums (4 ml/kg Körpergewicht des Kaninchens in zwei aufeinanderfolgenden Injektionen).

(1.) Blutserum: Harnpflichtige Substanzen

Bei der Bestimmung der harnpflichtigen Substanzen ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den normalen und erkrankten Tieren. Lediglich die Mittelwerte der Gruppen zeigen eine ansteigende Tendenz; gleichzeitig nehmen die Streuungen erheblich zu. Das heißt, einzelne Tiere zeigen in den pathologischen Stadien stark erhöhte Werte. Zum Vergleich seien jeweils die höchsten und die niedrigsten gemessenen Werte bei Normaltieren und bei erkrankten Tieren angeführt.

	Harnstoff [mg %]	Kreatinin [mg %]	Anorg. Phosphat [mval/l]
Normal	36 - 50 42.0 ± 5.8 (8)	0.7 - 1.5 1.17 ± 0.23 (10)	2.1 - 4.3 3.18 ± 0.56 (10)
6. Tag	36 - 58 42.8 ± 11.7 (5)	0.8 - 1.7 1.08 ± 0.38 (5)	2.4 - 7.8 3.88 ± 2.22 (5)
10. Tag	36 - 56 42.2 ± 14.6 (5)	1.1 - 1.5 1.34 ± 0.15 (5)	3.1 - 4.6 3.44 ± 0.67 (5)
14. Tag	48 - 114 70.0 ± 26.8 (5)	1.1 - 4.4 2.18 ± 1.33 (5)	3.1 - 3.8 3.40 ± 0.30 (5)

Es zeigt sich dabei, daß ám 14. Tag der Erkrankung Harnstoff und Kreatinin erhöhte Werte zeigen, die sich aber infolge der hohen Streuung und der dadurch notwendigen, nicht sehr empfindlichen Statistischen Testmethode (Zentralwertvergleich mit Fischer-Yates-Test; siehe Abschnitt 2.7.) als nicht signifikant unterschiedlich gegenüber der normalen Vergleichsgruppe erweisen. Dies zeigt gleichzeitig, daß die Tiere bei gleicher Nephrotoxindosis die glomerulonephritischen Veränderungen in unterschiedlicher Ausprägung entwickeln, wie diese auch schon von H. MOERS [264] sogar bei Tieren aus dem gleichen Wurf nachgewiesen wurden. Dieser Autor beschreibt bei seinen mit höherer Nephrotoxindosis ausgelösten Glomerulonephritiden einen deutlichen Anstieg des Rest-N auf etwa das doppelte des Normalwertes, allerdings auch nicht bei allen (sicher erkrankten) Tieren. Auch WACHSTEIN, M. et al. [393] gibt an, daß bei niedriger Dosierung des Nephrontoxins nur sehr milde verlaufende Glomerulonephritiden, die spontan zur Ausheilung kommen und einen nur vorübergehenden Anstieg der Rest-N-Werte zeigen, ausgelöst werden. Bei der Annahme eines ungleich starken Ansprechens auf das Nephrotoxin und einer ungleichen Geschwindigkeit der Entwicklung glomerulärer Läsionen ist es verständlich, daß sich nicht bei allen Tieren an einem bestimmten Tag des Krankheitsgeschehens erhöhte Rest-N-Werte finden.

(2.) Blutbildveränderungen

(2.0.) Veränderungen des roten Blutbildes[1)]

Im Gegensatz zu der bei chronischen Nierenkrankheiten (chronische Glomerulonephritis und chronische Pyelonephritis) bekannten renalen Anämie (vgl. dazu die Übersicht bei H. M. KELLER [186]) kommt es bei der akuten experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens zu einem vermehrten Gehalt an roten Blutkörperchen. Dieser Vorgang beginnt am 10. Tag und besteht weiterhin am 14. Tag; im gleichen Sinne findet sich auch ein Anstieg des Hb-Gehaltes und der Retikulozytenzahl (siehe Abb. 35). Demgegenüber stellt MÖRS, H. [264] in seiner Arbeit ein Gleichbleiben oder eine Abnahme der Erythrozytenzahlen im akutem Stadium der experimentellen Glomerulonephritis fest. Ob diese gegensätzlichen Befunde in Abhängigkeit zur Nephrotoxindosierung stehen und inwieweit eine durch Erythropoietin induzierte Markstimulierung vorliegen kann, bedarf einer weitergehenden experimentellen Klärung. Für die akute, aseptische Nierenentzündung des Menschen sind ähnliche Beobachtungen nicht publiziert. Bekannt ist lediglich eine Polyglobulie beim Hypernephrom, beim Nierenkarzinom und bei polycystischen Nierenerkrankungen (siehe dazu MEDWEI, C. V. [253], ENDERS, W. et al. [106] sowie THIEL, G. [365].

---

1) Die Untersuchung des roten Blutbildes in der vorliegenden Arbeit umfaßt lediglich die Erythrozytenzahl, den Hämoglobingehalt und die Retikulozytenzahl. Zur vollständigen Charakterisierung des roten Blutbildes sind diese Angaben nicht hinreichend; doch zeigen sich, vor allem im Zusammenhang mit den Enzymbestimmungen einige interessante, wenngleich nachprüfungsbedürftige Befunde. Zur Diskussion der Veränderung des roten Blutbildes im Zusammenhang mit den Enzymbestimmungen siehe Abschnitt (1.0.1.).

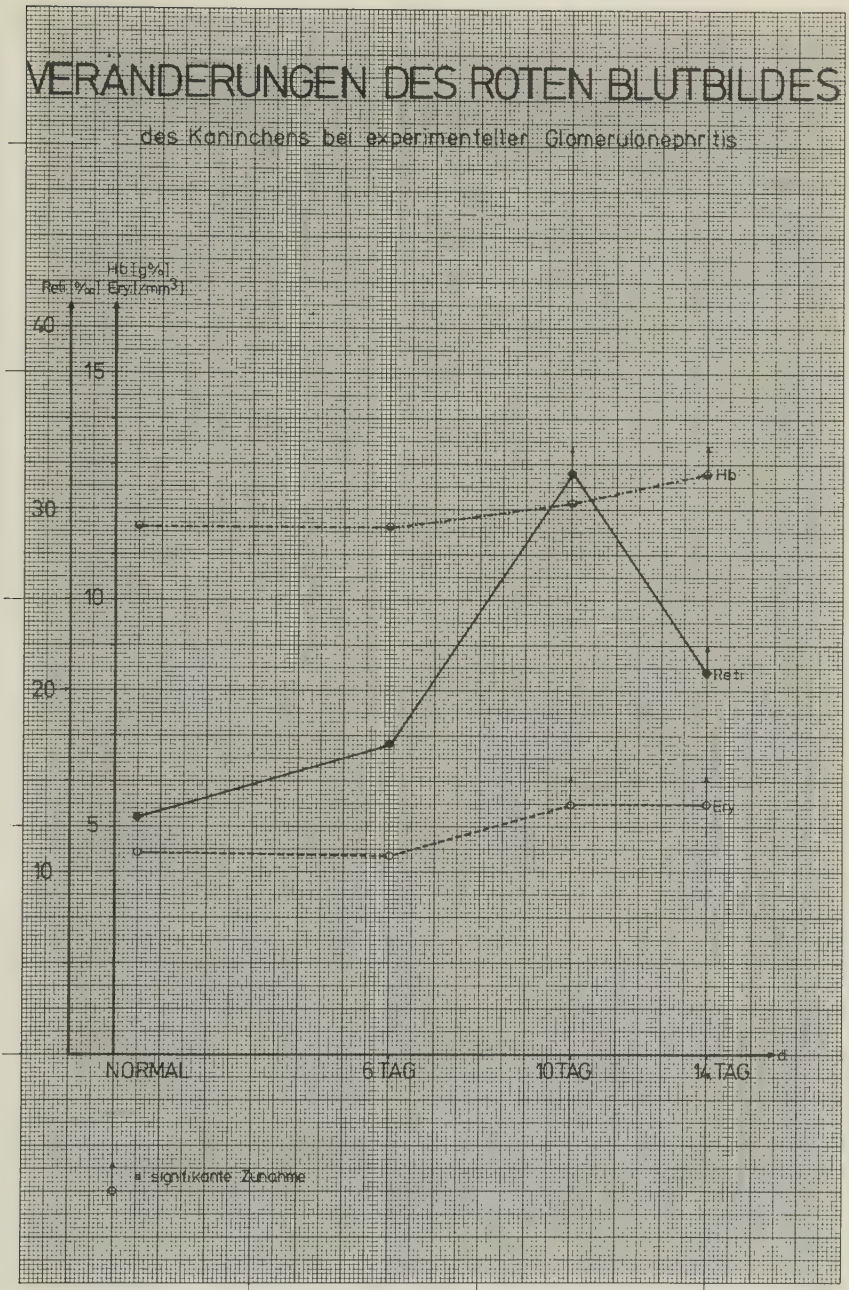

VERÄNDERUNGEN DES ROTEN BLUTBILDES
des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis
Ret [‰] Hb [g%] Ery [/mm³]
40
15
30
10
20
5
10
Hb
Ret
Ery
NORMAL
6. TAG
10. TAG
14. TAG
d
= signifikante Zunahme

Abb. 35

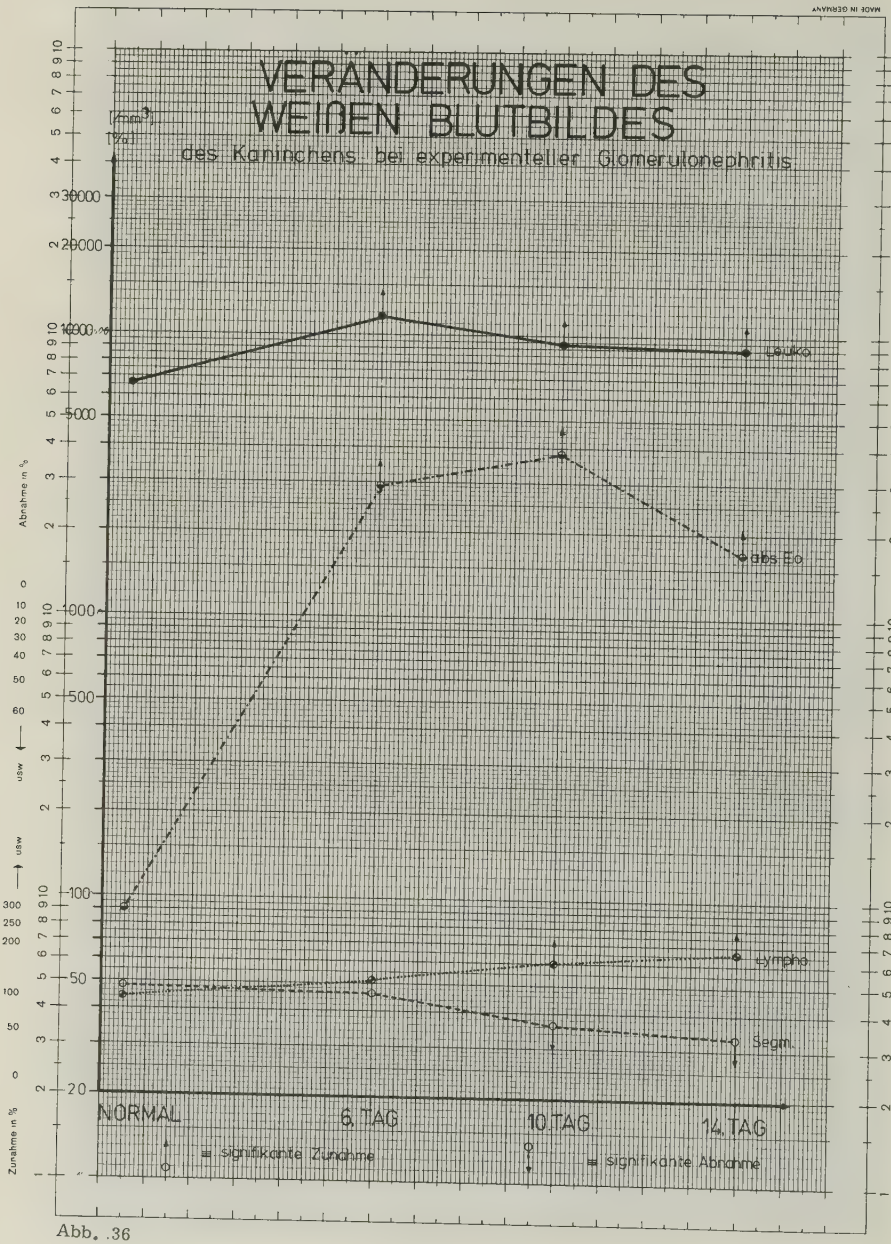

VERÄNDERUNGEN DES WEIßEN BLUTBILDES
des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis
[/mm³]
[%]
30000
20000
10000
5000
1000
500
100
50
20
Leuko
abs. Eo
Lympho
Segm.
Abnahme in %
Zunahme in %
usw
NORMAL
6. TAG
10. TAG
14. TAG
≡ signifikante Zunahme
≡ signifikante Abnahme
Eine Achse logar. geteilt von 1 bis 10000, Einheit 62,5 mm, die andere in mm mit Prozentmaßstab

Abb. 36

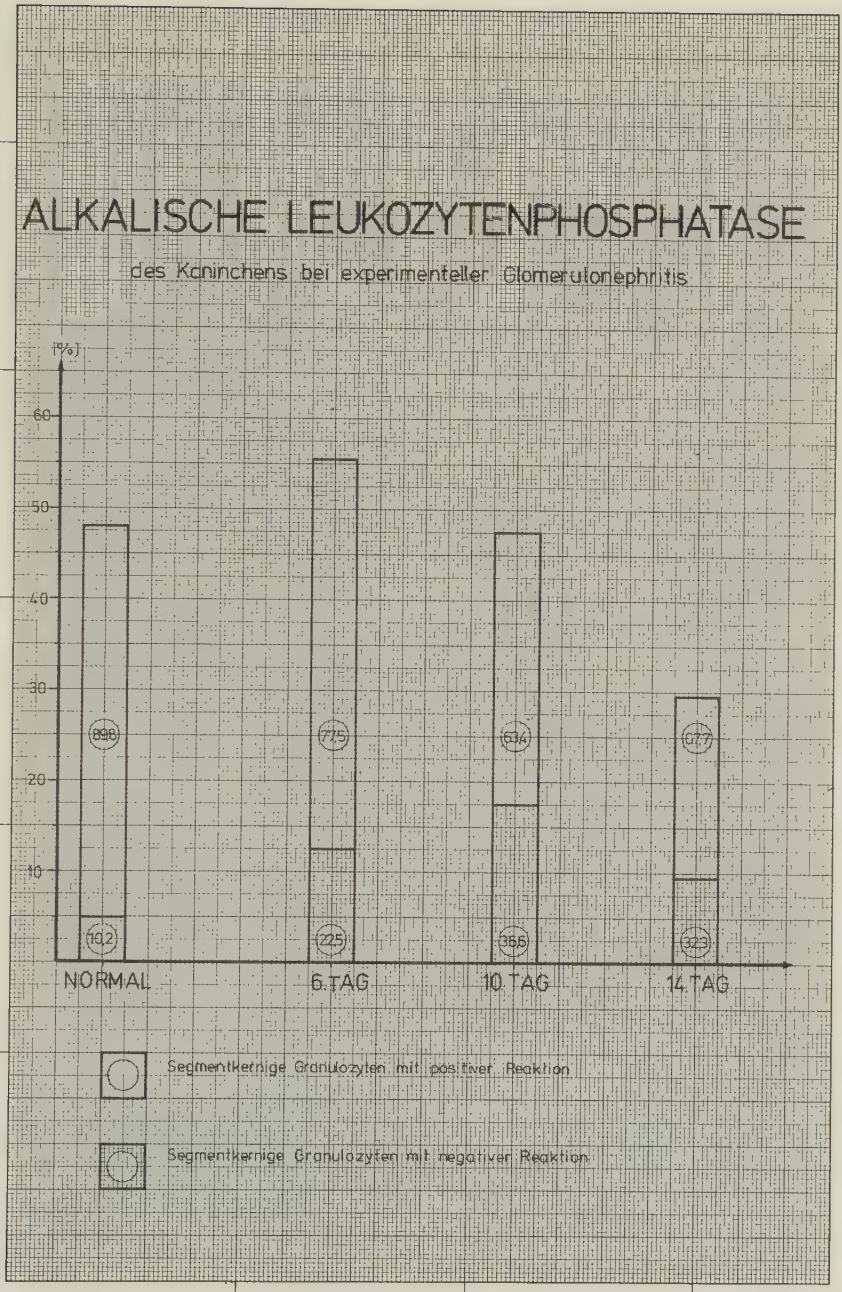

ALKALISCHE LEUKOZYTENPHOSPHATASE
des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis
[%]
60
50
40
30
20
10
898
102
775
225
634
366
677
323
NORMAL
6. TAG
10. TAG
14. TAG
Segmentkernige Granulozyten mit positiver Reaktion
Segmentkernige Granulozyten mit negativer Reaktion

Abb. 37

(2.1.) Veränderungen des weißen Blutbildes (siehe Abb. 36 und 37)
Das weiße Blutbild wurde durch Zählungen der Leukozyten, der eosinophilen Granulozyten, sowie der Differenzierung der nach PAPENHEIM und auf alkalische Leukozytenphosphatase angefärbten Ausstriche charakterisiert.
Bereits am 6. Tag findet sich eine ausgesprochene Leukozytose mit absoluter Eosinophilie, wobei das Differentialblutbild eine dem Normaltier weitgehend ähnliche Verteilung zeigt. Am 10. Tag findet sich eine Abnahme der neutrophilen Granulozyten bei Zunahme der Lymphozyten; am ausgeprägtesten ist dieser Zustand am 14. Tag. Bei den Granulozyten steigt der prozentuale Anteil der phosphatase-negativen Zellen von 10.2% beim Normaltier aufmaximal 36.6% am 10. Tag der Erkrankung. Dies spiegelt die Eosinophilie wieder, da die eosinophilen Granulozyten phosphatase-negativ sind. Die Befunde der Auszählungen (Gesamtleukozytenzahl und absolute Eosinophilen-Zahl) sowie des phosphatase-gefärbten Differentialblutbildes entsprechen einander weitgehend.
Auch diese Befunde stehen im Gegensatz zu denen von MÖRS, H. [264], der bei seinen Versuchsbedingungen eine Leukozytose mit Zunahme der segmentkernigen Granulozyten bei Abnahme der Lymphozyten feststellte; eine Eosinophilie kam nicht zur Beobachtung.

4.3.2. Biochemischer Verlauf[1)]

(0.) Biochemische Normalbefunde

(0.0.) Enzyme
Die Kaninchenniere ist in Bezug auf das Enzymmuster des glykolytischen Abbauweges nur wenig untersucht worden (siehe Tabelle 14). STAVE, U.

---

1) Zur Übersicht siehe Abb. 38 und 39

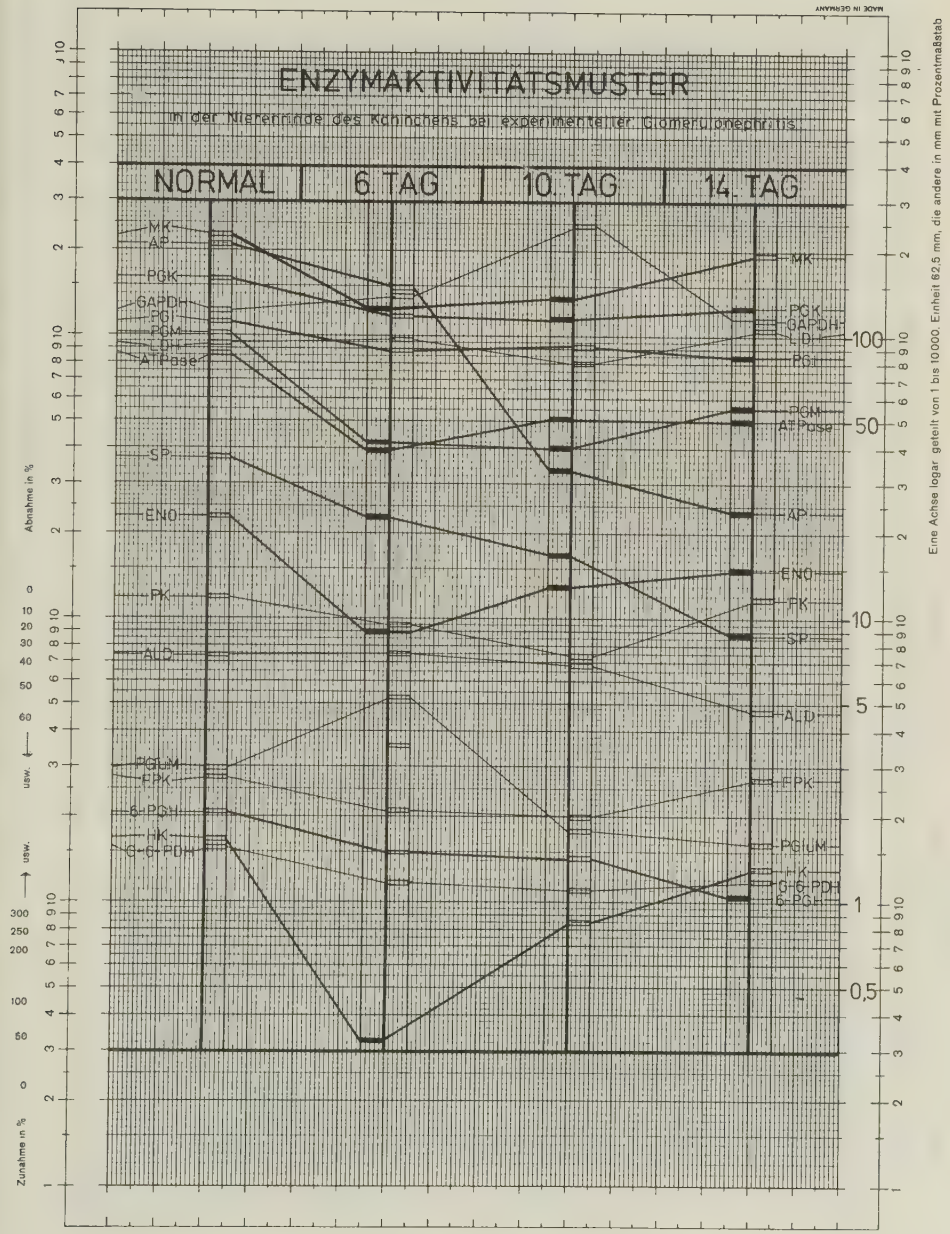

ENZYMAKTIVITÄTSMUSTER
in der Nierenrinde des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis
NORMAL
6. TAG
10. TAG
14. TAG
MK
AP
PGK
GAPDH
PGI
PGM
LDH
ATPase
SP
ENO
PK
ALD
PGLM
FPK
6-PGH
HK
G-6-PDH
Abnahme in %
Zunahme in %
usw.
Eine Achse logar. geteilt von 1 bis 10000. Einheit 62,5 mm, die andere in mm mit Prozentmaßstab

Abb. 38

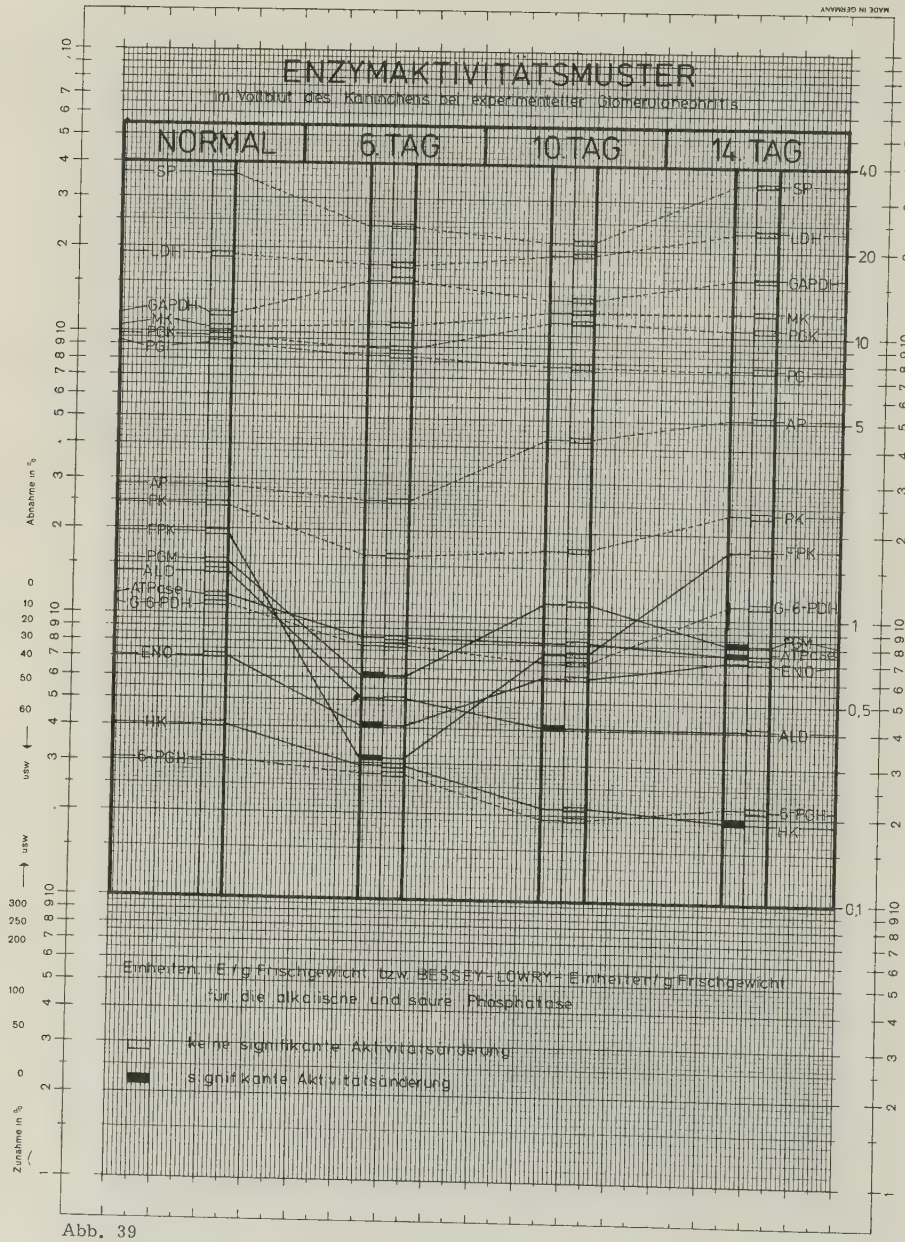

ENZYMAKTIVITÄTSMUSTER
im Vollblut des Kaninchens bei experimenteller bilateraler Nephritis
NORMAL
6. TAG
10. TAG
14. TAG
SP
LDH
GAPDH
MK
PGK
PG
AP
PK
TPK
PGM
ALD
ATPase
G-6-PDH
ENO
HK
6-PGH
Einheiten: E/g Frischgewicht bzw. BESSEY-LOWRY-Einheiten/g Frischgewicht
für die alkalische und saure Phosphatase
keine signifikante Aktivitätsänderung
signifikante Aktivitätsänderung
Abnahme in %
Zunahme in %
usw
Eine Achse logar. geteilt von 1 bis 10000. Einheit 62,5 mm, die andere in mm mit Prozentmaßstab
MADE IN GERMANY

Abb. 39

[357][358] hat einige Enzyme am Gesamt-Nierenhomogenat untersucht. Dabei zeigt sich eine weitgehende Übereinstimmung mit den hier vorgelegten Daten. Lediglich bei der Phosphoglukomutase und der Glyzerinaldehydphosphatdehydrogenase gibt STAVE, U. abweichende Werte an. Die PGluM zeigt bei seinen Untersuchungen eine dreifach höhere Aktivität, die GAPDH-Aktivität beträgt bei ihm 1/3 des in der vorliegenden Arbeit angegebenen Wertes. Zieht man zum Vergleich der Enzymaktivitätsmuster des glykolytischen Abbauweges auch die an der Rattenniere und der Mäuseniere gemessenen Werte heran (Tabelle 15) so zeigt sich, daß sehr unterschiedliche Angaben vorliegen. Dies betrifft vor allem die Aktivität der Hexokinase. SYDOW, G. [363] und DUBACH, U. C. et al. [95] geben für das Gesamthomogenat der Rattenniere Werte an, die den an der Kaninchenniere gemessenen gleichen. Demgegenüber hat FELLENBERGER, R. v. et al. [115] am Ratten- und Mäusenierenhomogenat wesentlich höhere Aktivitäten der Hexokinase gemessen. Diese Diskrepanz ist um so bedeutender und klärungsbedürftiger, als die Hexokinase als eines der regulatorischen Enzyme im Kohlehydratstoffwechsel (Glykolyse und Glukoneogenese) gilt. Bei den hier vorgelegten Werten fällt auf, daß die Aktivität der Pyruvatkinase kleiner als die der Enolase ist. Nach den Untersuchungen von FELLENBERGER, R. v. et al. [115] ist dies im Falle der Mäuse- und Rattenniere gerade umgekehrt. Trotzt dieser Unterschiede geht aus allen Untersuchungen hervor, daß die folgenden Enzyme die niedrigsten Aktivitäten besitzen und damit die begrenzenden Faktoren der glykolytischen Aktivität der Nierenrinde darstellen.

1. Hekokinase
2. Phosphoglukomutase
3. Glukose-6-phosphatdehydrogenase
4. Fruktosephosphatkinase

Dabei fällt auf, daß im Zentrum der Regulation das Glukose-6-phosphat steht, denn von den vier, die Aktivität der Stoffwechselkette begrenzenden Enzymen haben drei Glukose-6-phosphat als Substrat. Die Aktivitätsangaben für die alkalische und saure Phosphatase bei den verschiedenen Autoren zeigen eine ungewöhnlich hohe Diskrepanz, deren Ursache aus den angewandten Aufarbeitungs- und Bestimmungsmethoden nicht unmittelbar ersichtlich ist.

TABELLE 14: Enzymaktivitäten in der Kaninchenniere

Enzym/Methode	eigene Werte[1] [128] [129]	HOLMGARD, A.[2] [166]	STAVE, U.[3] [357] [358]	EWING, L. L. et al.[4] [113]
Homogenat	Nierenrinde	Nierenrinde	Gesamt-Niere	Nierenrinde
Geschlecht	männlich	weiblich		
Extraktionsmethode	TRAP/AEDT pH 7.6	KREBS-Lsg pH 7.4	0.1 M Phosphatpuffer pH 7.4	0.154 M KCl-Lsg
Homogenisation	Ultra-Turrax	POTTER-ELVERHJEM	Polytron	
HK	1.7± 1.7 (8)		1.79± 0.51 (20)	
PGI	117 ±36 (12)		101 ±22.5 (20)	
PGluM	2.9± 2.3 (10)		7.49± 3.29 (20)	
ALD	7.3± 4.2 (11)			
FPK	2.8± 0.9 (11)			
GAPDH	124 ±30 (11)		38.1 ±12.2 (20)	
PGK	159 ±30 (11)			
PGM	101 ±35 (12)			
ENO	22.7± 3.9 (12)			
PK	11.8± 4.4 (9)			
LDH	93.5±32.6 (12)		90.0 ±21.3 (20)	92 (12)
G-6-PDH	1.7± 0.7 (11)		1.76± 0.36 (20)	
6-PGH	2.1± 1.1 (11)			
AP	217 ±114 (7)	2020±125 (9)		
SP	37.8±16.3 (8)	144± 8 (9)		
ATPase	94 ±34 (9)			
MK	231 ±31 (7)			

Enzymaktivitäten in der Originalarbeit in:
1) 10^{-6} Mol/min/g Feuchtgewicht (25° C)
AP und SP 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C)
2) 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C)
3) 10^{-6} Mol/min/g Feuchtgewicht (25° C)
4) 10^{-6} Mol/min/mg Protein (25° C)
Umrechnung in 10^{-6} Mol/min/g Feuchtgewicht unter der Voraussetzung, daß der Proteingehalt der Nierenrinde 0.219 g/Feuchtgewicht beträgt.

TABELLE 15: Enzymaktivitäten in der Ratten- und Mäuseniere

Enzym/Methode	SYDOW, G.[1] [363]	FELLENBERGER, R. v. et al. [115][1]	DUBACH, U. C. et al. [95][2]	FELLENBERGER, R. v. et al. [115][1]
Tier	Ratte	Ratte	Ratte	Maus
Homogenat	Gesamt-Niere	Gesamt-Niere	Gesamt-Niere	Gesamt-Niere
Geschlecht		männlich	männlich	männlich
Extraktion	TRIS-Puffer pH 7.8	TRAP/AEDT pH 7.5	TRIS-Puffer	TRAP/AEDT pH 7.5
Homogenisator	POTTER	POTTER	Glas-Homogen	POTTER
HK	2.86±0.14 (6)	36.3±19.9	1.61±0.11(6)	17.6± 9.6
PGI		20.0± 9.7		23.7±10.5
ALD		7.0± 1.3		6.6± 3.3
FPK	4.7 ±0.60 (6)	1.2± 0.3		1.6± 0.8
GAPDH		82.5±25.5		50.5± 6.0
PGK		43.0± 5.1		82.0± 9.5
PGM		56.0±15.7		32.0± 9.8
ENO		10.3± 2.2		6.0± 5.9
PK		19.2± 2.1		16.7± 7.9
LDH		71.0±10.0	112 ±9.2 (6)	109.4±39.9
G-6-PDH		1.2± 0.3	2.03±0.1 (6)	7.8± 0.6
AP			6300±1090(6)[3]	

1) Enzymaktivität in Originalarbeit: 10^{-6} Mol/min/g Feuchtgewicht (25° C)
2) Enzymaktivität in Originalarbeit: Mol/h/kg Trockengewicht (37° C) Umrechnung in 10^{-6} Mol/min/g Frischgewicht (25° C) unter der Voraussetzung eines $Q_{T\ 12^{o}} = 2.4$ und eines Trockengewichtes von 25/ des Feuchtgewichtes
3) Einheit umgerechnet auf 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C)

Während die eigenen Werte bei AP: 217 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C) und SP: 37.8 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C) liegen, gibt HOLMGARD, A. [166] für die AP: 2020 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C) und SP: 144 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C) an; DUBACH, U. C. [95] mißt am Gesamthomogenat der Rattenniere sogar 6300 10^{-6} Mol/h/g Feuchtgewicht (37° C). Möglicherweise beruhen diese Unterschiede in der Verwendung von Tieren ungleichen Alters, ungleichen Geschlechts und ungleicher Rasse. So wurden in der vorliegenden Untersuchung männliche Tiere verwendet, während HOLMGARD, A. [166] weibliche Tiere benutzt (siehe dazu DEIMLING, O. v. et al. [78] [79] und BAUMANN, G. et al. [22] [23]).

(0.1.) Metabolitengehalte der Kaninchennierenrinde und des Vollblutes
Die Metabolitkonzentrationen die in der vorliegenden Arbeit bestimmt wurden, entsprechen, unter Berücksichtigung der in einigen Details unterschiedlichen Versuchsanordnungen der verschiedenen Autoren, den in der Literatur angegebenen Werten: siehe Tabelle 16. Auffallend ist der relativ hohe AMP-Gehalt (das doppelte wie der von THORN, W. et al. [371] gemessene Wert) und vor allem der sehr hohe PY-Gehalt (das 7fache des Wertes den THORN, W. et al. [371] angeben). Bemerkenswert ist auch der hohe stationäre Zwischenstoffgehalt des 1-PG[1]. Möglicherweise ist dies durch eine relativ hohe glykoneogenetische Aktivität der Nierenrinde zu erklären. Dabei würde sowohl über den Abbau der Fettsäuren zu Glyzerin-1-phosphat als auch über Phosphoenolpyruvat durch eine regulative Aktivitätsanpassung der Pyruvatkinase (sowie der Pyruvat-Cocarboxylase und der Oxalazetat-Decarboxylase) die zur Glukoneogenese notwendigen Substrate zur Verfügung gestellt (siehe dazu NEWSHOLME, E. A. et al. [278]). Zur beweiskräftigen Klärung dieser Interpretation bedürfte es indes weitergehender Untersuchungen.
Zum Vergleich wurden die Metabolitengehalte der Ratten- und Hundeniere in Tabelle 17 zusammengestellt.

---

[1] Der 1-PG-Gehalt liegt in der Höhe wie er von HOHORST, H. J. et al. [165] für die Rattenleber gefunden wurde: 0.253 µ Mol/g Feuchtgewicht.

TABELLE 16: Metabolitengehalte im Nierenrindenextrakt und Vollblut des Kaninchens

Metabolit/ Methode	NIERE			VOLLBLUT	
	eigene Werte [128] [129]		THORN, W. et al. [369] [370] [371]	eigene Werte [128] [129]	GERCKEN, G. et al. [131]
Gewebs-entnahme	Gefrierstopp		Gefrierstopp	Einfließen in $HClO_4$	Einfließen in $HC\ 10_4$
Narkose	Barbiturate		Barbiturate	Barbiturate	Barbiturate
Geschlecht	männlich		männlich	männlich	
ATP	1.46 ±0.46	(14)[1]	1.28 (3)[1]	0.75 ±0.63 (7)[1]	0.82 (6)[3]
ADP	0.63 ±0.22	(15)	0.63 (3)	0.08 ±0.03 (7)	0.065 (6)
AMP	1.03 ±0.43	(15)	0.54 (3)	0.20 ±0.17 (8)	-
ATP/ADP	2.81 ±1.45	(13)	2.02 (3)	7.52 ±5.11 (5)	12.9 (6)
GLU	6.5 ±4.3	(12)	5.16 (6)	4.2 ±1.8 (7)	6.34 (6)
G-6-P	0.08 ±0.02	(7)	-	0.017±0.008 (5)	0.022 (5)
FDP	0.031±0.02	(12)	-	0.006±0.001 (6)	0.014 (6)
DAP	0.018±0.008	(12)	-	0.006±0.002 (6)	0.013 (6)
1-PG	0.22 ±0.14	(11)	-	-	-
PY	0.21 ±0.11	(14)	0.032 (5)	0.11 ±0.04 (7)	0.066 (6)
LAK	3.24 ±1.74	(10)	2.59 (6)	0.52 ±0.20 (9)	1.75 (6)
DNS	4.08 ±0.65	(10)[2]	-	-	-
RNS	3.50 ±0.63	(14)[2]	6.59	-	-

[1] Einheit: 10^{-6} Mol/g Frischgewicht
[2] Einheit: mg/g Frischgewicht
[3] Einheit: 10^{-6} Mol/ml Vollblut (1 ml Vollblut = 1 g Vollblut)
[4] Einheit: 10^{-6} Mol/g Frischgewicht

TABELLE 17: Metabolitengehalt im Nierenrindenextrakt bei Ratte und Hund

Einheit: [10^{-6} Mol/g Feuchtgewicht]

Metabolitengehalt Methode	GERLACH, E. et al. [132] [133]	ALLEYN, G. A. O. [6]	SANDERS, A. P. et al. [327]	ROTH, E. et al. [322]
Tier	Ratte	Ratte	Ratte	Hund
Gewebsentnahme	Gefrierstopp	Gefrierstopp	Gefrierstopp	Gefrierstopp
Narkose	Äther	Barbiturate	Äther	Barbiturate Fluothane N_2O/O_2
Geschlecht			weiblich	weiblich
ATP	2.16±0.12	-	1.13±0.16 (12)	0.89±0.14 (4)
ADP	0.70±0.05	-	-	0.61±0.07 (4)
AMP	0.56±0.08	-	-	0.43±0.09 (4)
ATP/ADP	3.1 ±0.2	-	-	1.46±0.16 (4)
GLU	-	-	-	4.76±1.88 (4)
PY	-	0.12±0.09 (14)	-	0.07±0.06 (4)
LAK	-	-	-	2.79±1.68 (4)

(1.) Biochemische Befunde im Verlauf der experimentellen Glomerulonephritis

Im folgenden sollen die Veränderungen der Enzymaktivitäten und Metabolitengehalte während der experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens getrennt für den Kohlehydratstoffwechsel und Phosphatstoffwechsel besprochen werden.

(1.0.) Glykolytischer Abbauweg - Pentosephosphat-Weg

(1.0.0.) Nierenrinde

Um eine Aussage über den Zustand des Fließgleichgewichtes und der Durchflußrate bei Reaktionsketten des Intermediärstoffwechsels zu machen, ist es nötig, die die Gesamtleistung begrenzenden Reaktionen der Kette zu kennen. Beim Kaninchennierenrindenextrakt sind dies, entsprechend den Angaben anderer Autoren für die Niere[1] und auch für andere Organe[2] die durch folgende Enzyme katalysierten Reaktionen:

1. Phosphoglukomutase ($\bar{x}$: 2.9 I.E./gFg)
2. Hexokinase ($\bar{x}$: 1.7 I.E./gFg)
3. Glukose-6-phosphatdehydrogenase ($\bar{x}$: 1.7 I.E./gFg)
4. Fruktose-6-phosphatkinase ($\bar{x}$: 2.8 I.E./gFg)
5. Pyruvatkinase ($\bar{x}$: 11.8 I.E./gFg)

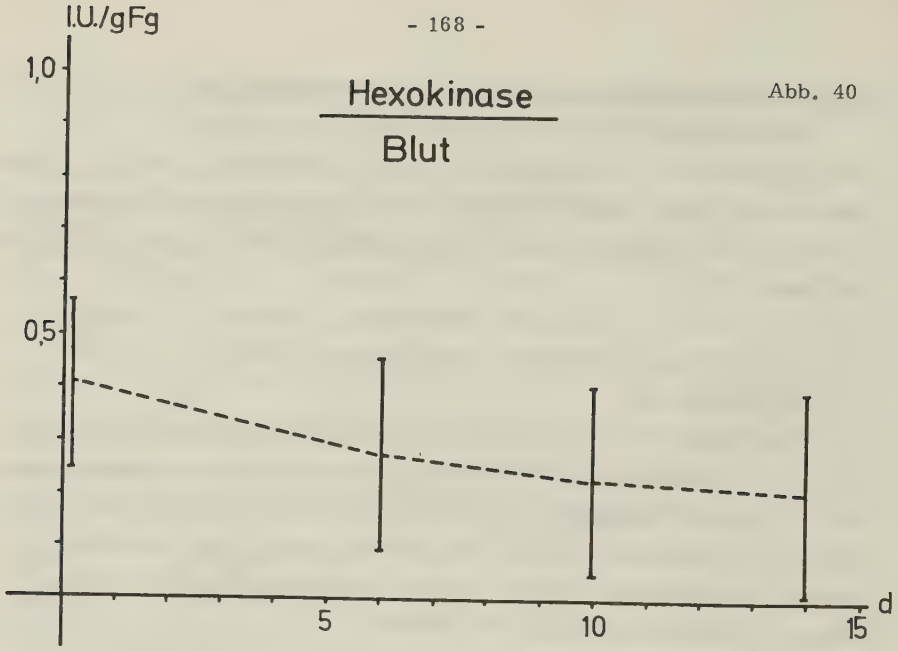
Diesen sogenannten "low-level-enzymes", an denen die Regulationsmechanismen der Glykolyse und Glukoneogenese ansetzen[3], steht die größere Gruppe der "high-level-enzymes" gegenüber, deren Aktivitäten und Aktivitätsänderungen für den funktionellen Zustand der Stoffwechselkette von geringerer Bedeutung sind.

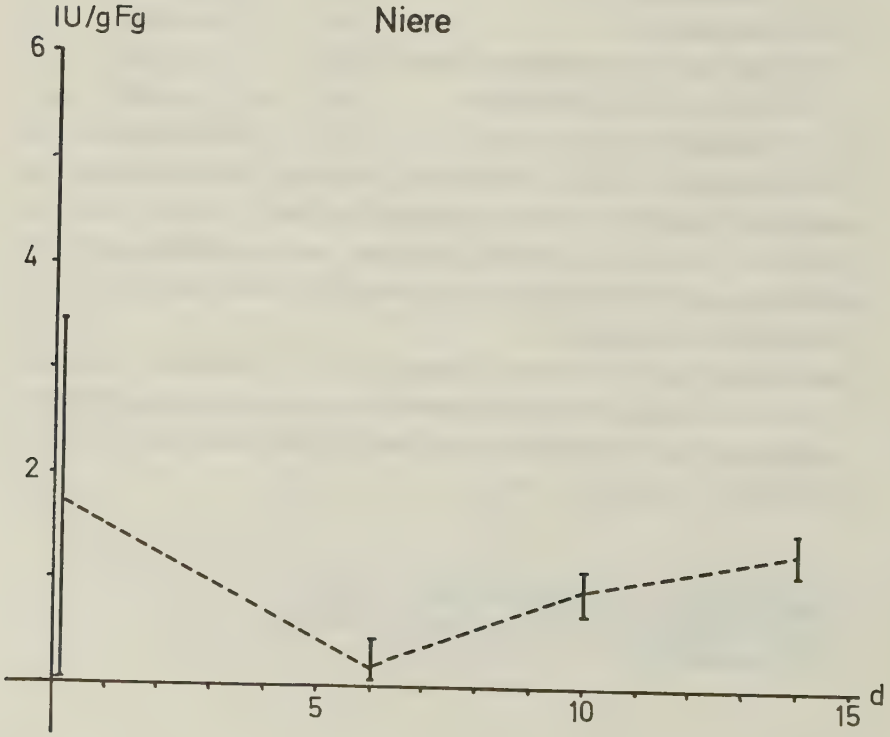
Das Glukose-6-phosphat steht im Zentrum von drei Reaktionen, die durch "low-level-enzymes" katalysiert werden. Die enzymatisch regulierte Bereitstellung dieses Substrates scheint damit für die Glykolyse von entscheidender Bedeutung zu sein.

---

1) Vgl. KREBS, H. A. [204] und WU, R. [418]
2) Vgl. WEBER, G. [402] und FITCH, W. M. et al. [119]
3) Vgl. NEWSHOLME, E. A. et al. [278]

Abb. 40





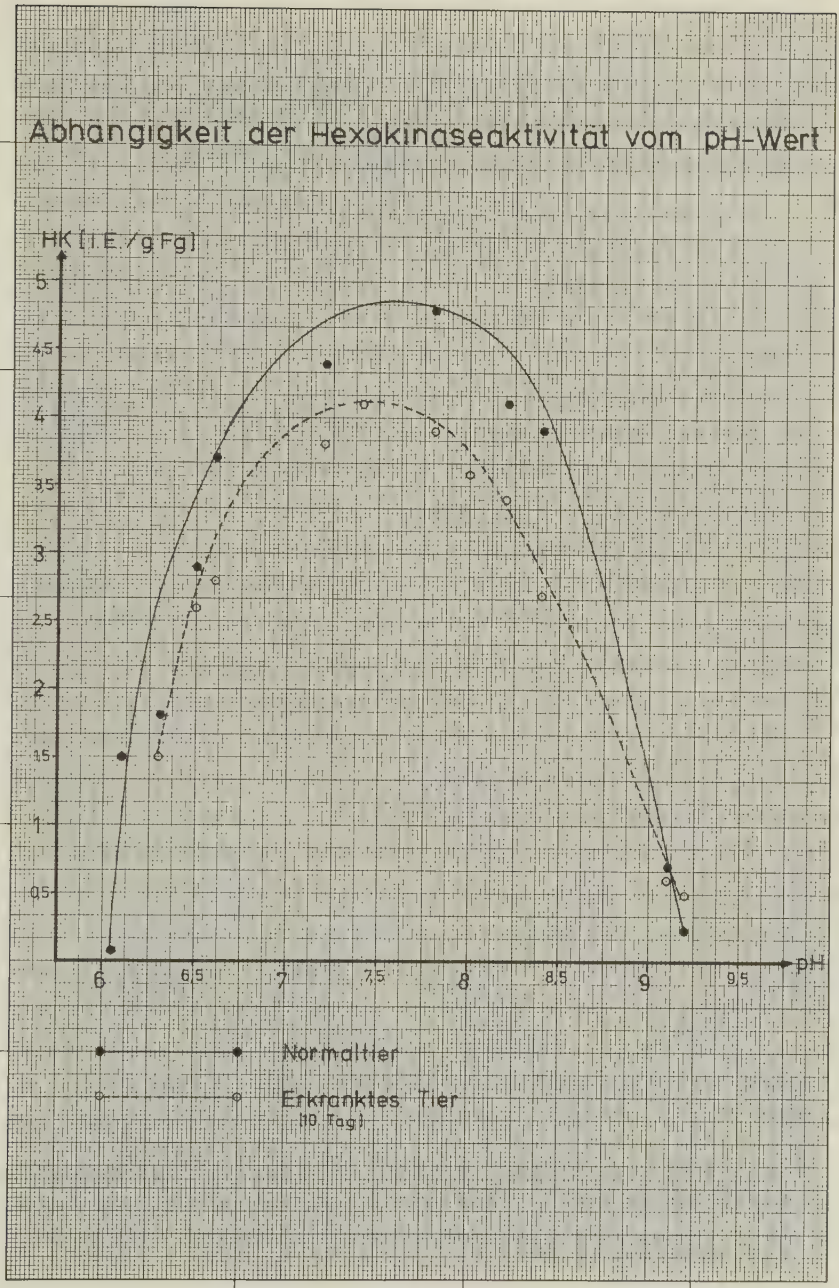
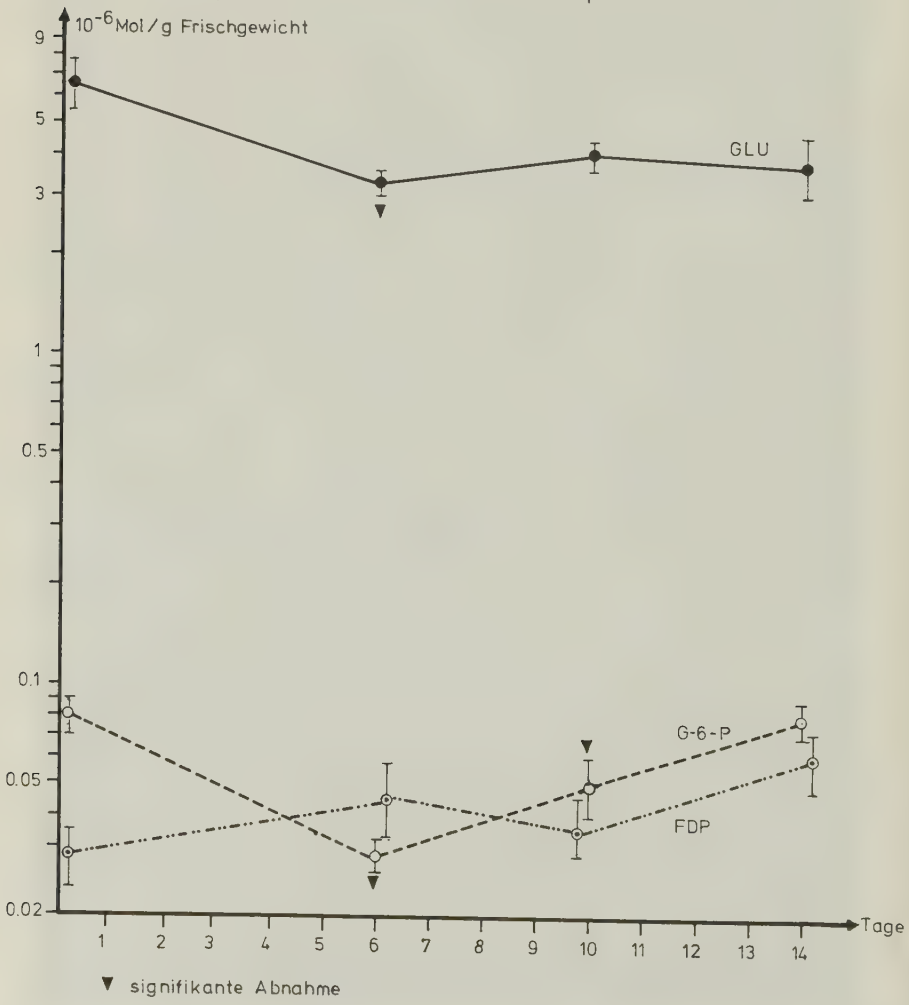

Abhängigkeit der Hexokinaseaktivität vom pH-Wert
HK [I.E./g Fg]
5
4,5
4
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
6
6,5
7
7,5
8
8,5
9
9,5
pH
Normaltier
Erkranktes Tier
(10 Tag)

Abb. 41

Abb. 42

GLUKOSE, GLUKOSE-6-PHOSPHAT UND FRUKTOSE-1.6.-DIPHOSPHAT

in der Nierenrinde des Kaninchens
bei experimenteller Glomerulonephritis



Die Hexokinaseaktivität, als eines der zu diesem Substrat hinführenden Enzym, ist am 6. Tag signifikant erniedrigt. Die Phosphoglukomutase zeigt am 6. Tag eine im Mittelwert (aber nicht signifikante) erhöhte Aktivität; am 10. und 14. Tag liegt die Aktivität im Mittelwert (ebenfalls nicht signifikant) unterhalb der Normalwerte. Die Glukose-6-phosphatdehydrogenase und die 6-Phosphoglukonatdehydrogenase sind am 6., 10. und 14. Tag im Mittelwert erniedrigt (nicht signifikant). Infolge der signifikanten Aktivitätsverminderung der Hexokinase am 6. Tag kommt es zu einem signifikanten Abfall des Glukose-5-phosphat-Gehaltes am 6. und 10. Tag. Als nicht hinreichende Kompensation dazu mögen die am 6. Tag (nicht signifikant) erhöhte Phosphoglukomutase-Aktivität und die in allen Stadien (nicht signifikant) erniedrigte Aktivität der Glukose-6-phosphatdehydrogenase und der 6-Phosphoglukonatdehydrogenase angesehen werden. Dafür spräche der auf 40% bis 70% des Normalwertes gesunkene Glukose-6-phosphatgehalt, einer relativ geringen Verminderung, wenn man bedenkt, daß die Hexokinase-Aktivität auf 18% des Normalwertes zurückgeht. Aus diesen Überlegungen ist zu schließen, daß im Verlauf der experientellen Glomerulonephritis eine verminderte glykolytische Aktivität der Nierenrinde vorliegt, die zunächst ihre Ursache in der verminderten Bereitstellung von Glukose-6-phosphat, infolge einer verminderten Hexokinase-Aktivität hat.

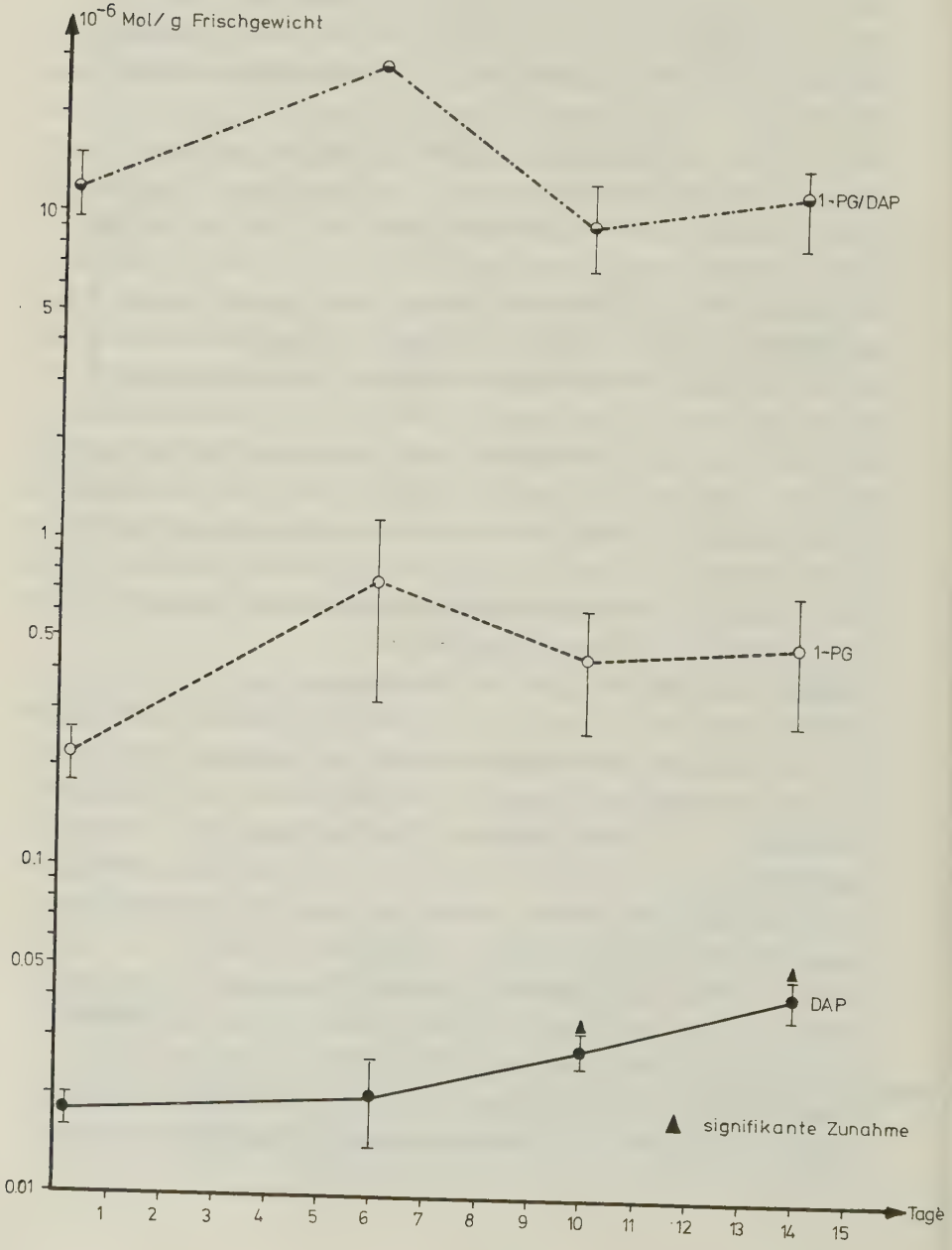
Weiterhin findet isch am 10. und 14. Tag eine signifikante Erhöhung des Dihydroxyazetonphosphat-Gehaltes, bei konstantem 1-Phosphoglyzerin-Gehalt (mit nicht signifikant erhöhten Mittelwerten), bei konstantem 1-PG/DAP-Quotienten und konstanter Summe aus 1-Phosphoglyzerin und Dihydroxyazetonphosphat. Daraus ist zu schließen, daß auf der Ebene der C_3-Verbindungen für die oben begründete verminderte glykolytische Aktivität ein Kompensationsmechanismus eintritt, der aus dem Abbau der Fettsäuren über Glyzerin-1-phosphat erfolgen könnte. (Siehe Abb. 43 und 44).

Am 6., 10. und 14. Tag besteht ein signifikant verminderter Laktatgehalt bei ansteigendem, aber nicht signifikant erhöhtem Pyruvat-Gehalt (Mittelwerte) (siehe Abb. 45 und 46). Ebenfalls signifikant vermindert ist die Summe der Gehalte des Redox-Paares Laktat + Pyruvat und der Quotient LAK/PY. Die Aktivität der Laktatdehydrogenase ist konstant. Dieser Be-

Abb. 43

GLYZERIN-1-PHOSPHAT UND DIHYDROXYAZETONPHOSPHAT

in der Nierenrinde des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis



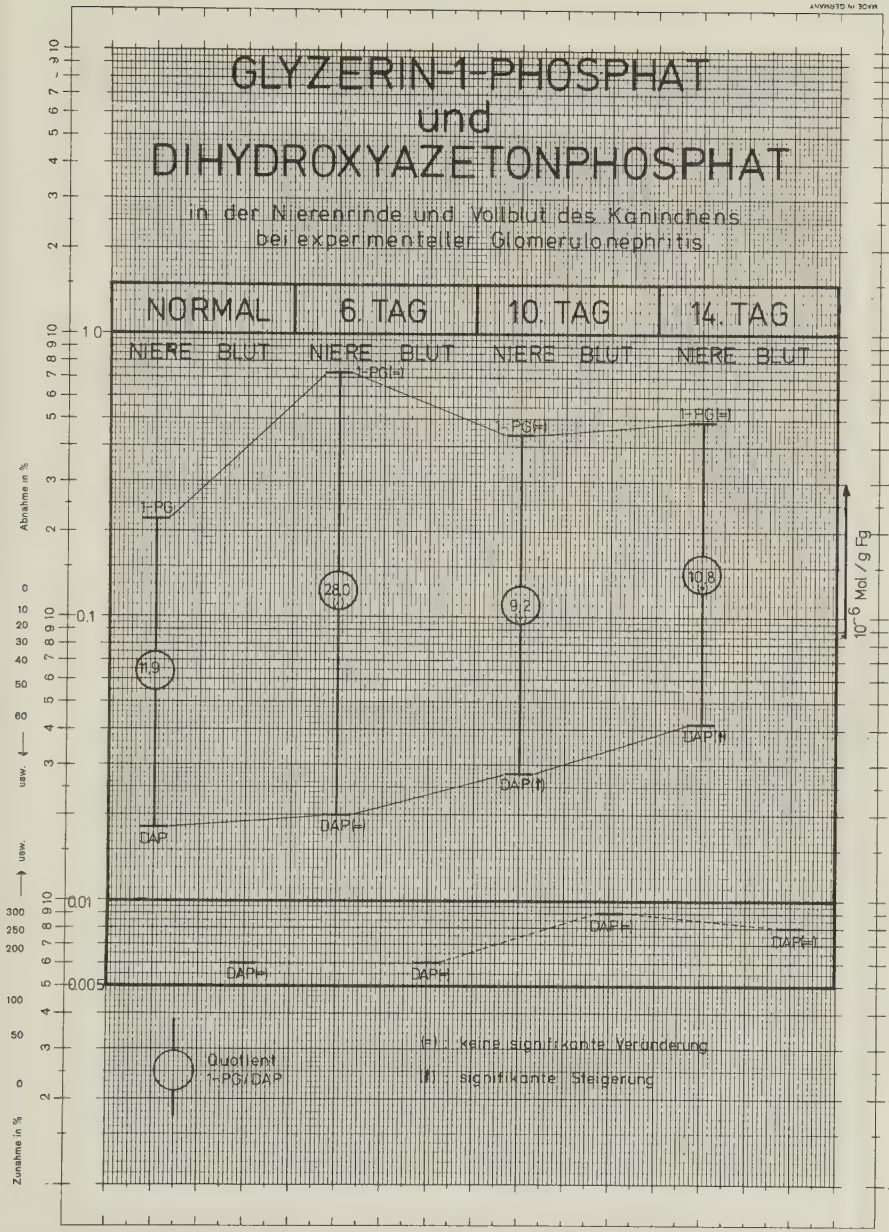
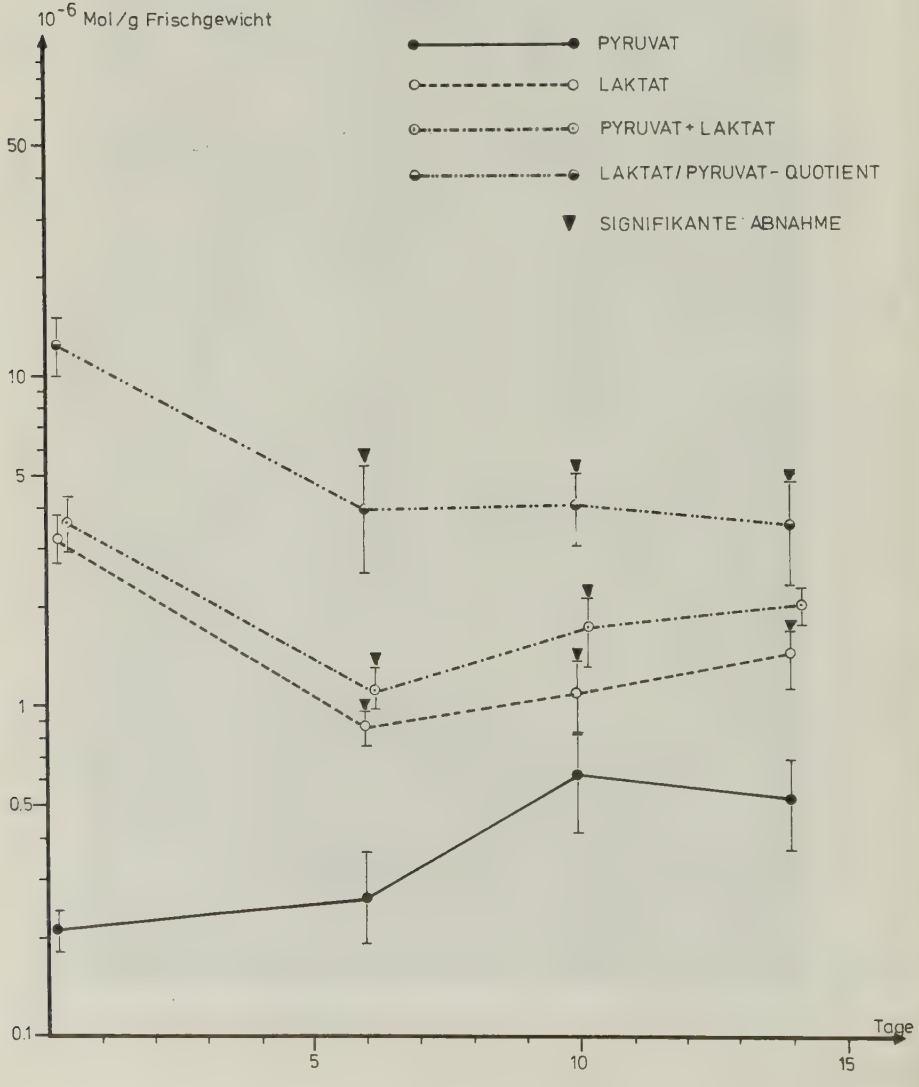

GLYZERIN-1-PHOSPHAT
und
DIHYDROXYAZETONPHOSPHAT
in der Nierenrinde und Vollblut des Kaninchens
bei experimenteller Glomerulonephritis
NORMAL
6. TAG
10. TAG
14. TAG
NIERE BLUT NIERE BLUT NIERE BLUT NIERE BLUT
1-PG(=)
1-PG(↑)
1-PG
11.9
28.0
9.2
10.8
DAP
DAP(=)
DAP(↑)
Quotient
1-PG/DAP
(=) keine signifikante Veränderung
(↑) signifikante Steigerung
10⁻⁶ Mol / g Fg
Abnahme in %
usw.
Zunahme in %
Eine Achse logar. geteilt von 1 bis 10000, Einheit 62,5 mm, die andere in mm mit Prozentmaßstab

Abb. 44

Abb. 45

LAKTAT- UND PYRUVATGEHALT

in der Nierenrinde des Kaninchens
bei experimenteller Glomerulonephritis



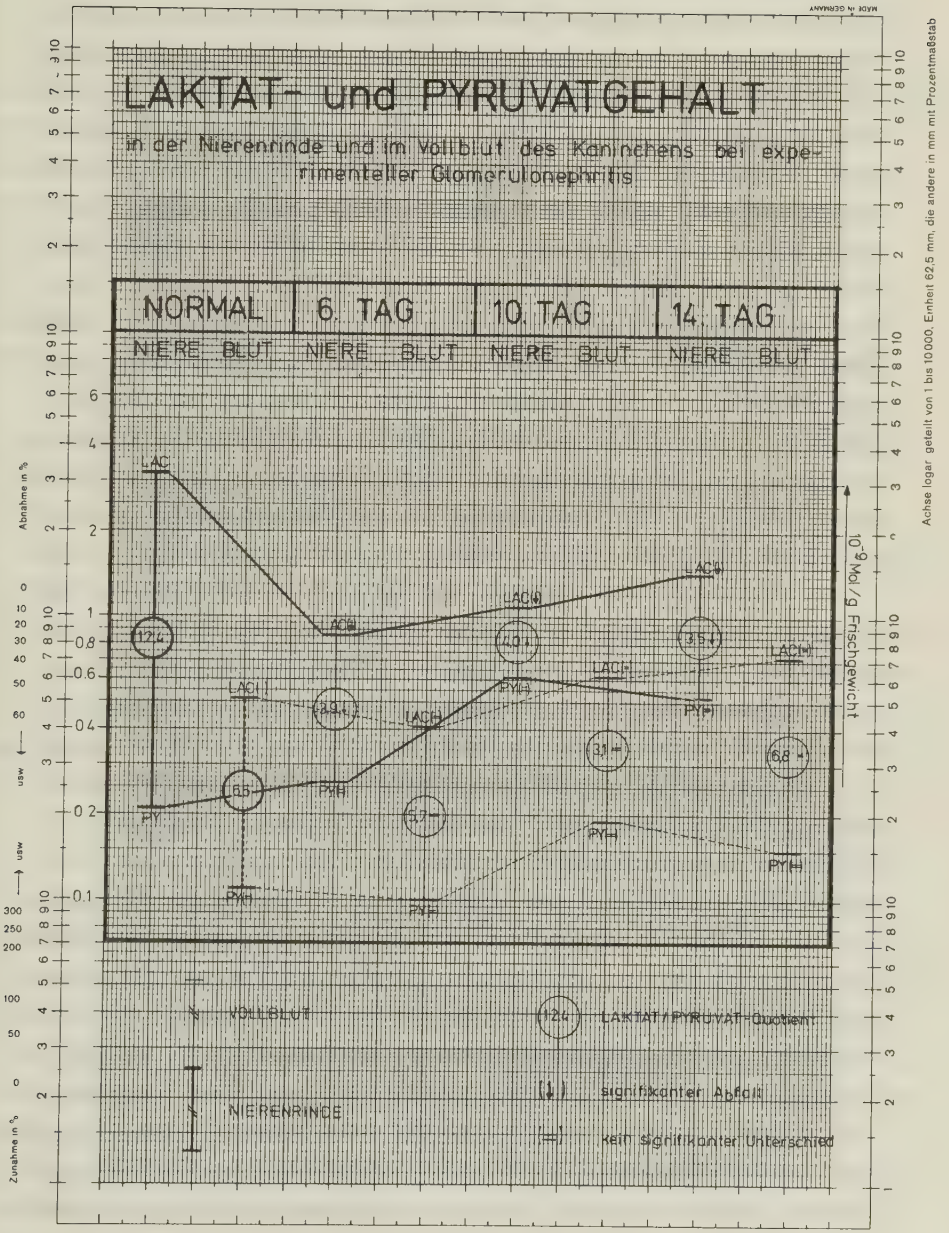

LAKTAT- und PYRUVATGEHALT
in der Nierenrinde und im Vollblut des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis
NORMAL
6. TAG
10. TAG
14. TAG
NIERE BLUT NIERE BLUT NIERE BLUT NIERE BLUT
LAC
LAC
LAC
LAC
LAC
LAC
PY
PY
PY
PY
PY
PY
12,4
6,5
2,3
3,7
2,0
3,5
3,1
6,8
Abnahme in %
Zunahme in %
usw
usw
10^{-2} Mol/g Frischgewicht
Achse logar. geteilt von 1 bis 10000, Einheit 62,5 mm, die andere in mm mit Prozentmaßstab
VOLLBLUT
NIERENRINDE
12,4 LAKTAT / PYRUVAT-Quotient
signifikanter Abfall
kein signifikanter Unterschied

Abb. 46

fund kann in verschiedener Richtung gedeutet werden; die Laktatbildung ist vermindert infolge einer erhöhten Einschleusung des Pyruvats in andere Stoffwechselwege: 1. vermehrte Einschleusung in den Zitronensäurezyklus über Azetyl-CoA; 2. vermehrte Carboxylierung zu Oxalazetat; 3. vermehrter Umsatz zu Alanin über die Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Reaktion. Welche dieser Möglichkeiten realisiert ist, kann aus den vorliegenden Untersuchungen nicht geschlossen werden; als Ausgleich für die verminderte glykolytische Aktivität scheint indes die vermehrte Einschleusung in den Zitronensäurezyklus am wahrscheinlichsten.

Bei Abnahme der Hexokinase-Aktivität würde man erwarten, daß der Glukose-Gehalt des Nierengewebes eine Zunahme erführt. Das Entgegengesetzte ist der Fall. Im Verlauf der Erkrankung zeigt sich am 6. Tag eine signifikante Verminderung, sowie am 10. und 14. Tag eine nicht signifikante Verminderung der Mittelwerte des Glukose-Gehaltes. Dies deutet an, daß entweder die aktive Glukose-Aufnahme oder die Glukose-Bildung im Rahmen der Glukoneogenese gestört ist. KLEINZELLER, A. et al. [197] zeigt für den aktiven Glukose-Transport in den proximalen Tubuli eine Na^+ - und Phlorrizin-Abhängigkeit dieses Vorganges. Beide Eigenschaften (Förderung durch Na^+ und Hemmung durch Phlorrizin) zeigt auch die Membran-ATPase der proximalen Tubuli, so daß man annehmen könnte, daß diese ATPase am aktiven Transport der Glukose beteiligt sein könnte. Da die ATPase während aller Stadien erniedrigt ist, kann der verminderte Glukose-Gehalt trotzt der verminderten Aktivität der Hexokinase möglicherweise auf eine verminderte Rückresorption im proximalen Tubulusanteil zurückgeführt werden.

Wesentliche Aktivitätsänderungen von Enzymen aus der Gruppe der "high-level-enzymes" finden sich bei den Fermenten der Phosphotriose-Glyzerat-Gruppe. Bei konstanter Aktivität der Glyzerinaldehyphosphatdehydrogenase findet sich eine Verminderung der Aktivitäten der Enolase, der Phosphoglyzeratmutase (beide in allen Stadien) und der Phosphoglyzeratkinase (am 10. und 14. Tag). Dabei bleibt jedoch das Verhältnis der Aktivitäten zueinander konstant, was sich am besten erweist, wenn man die Aktivitäten dieser Enzyme auf die Aktivität der GAPDH bezieht. Physiologisch dürften sich diese Veränderungen indes nicht auswirken, da der Abfall dieser Enzyme nicht hinreichend groß ist,

daß sie zum begrenzenden Faktor der Glykolyse werden (siehe Abb. 47 und 48). Zusammenfassend läßt sich sagen, daß während der experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens eine verminderte glykolytische Aktivität im Bereich der Nierenrinde festzustellen ist, sowie vermutlich auch eine verminderte Aufnahme von Glukose durch die Zelle. Am deutlichsten ausgeprägt sind diese Veränderungen am 6. Tag der Erkrankung, also in einem Stadium, an dem die histochemischen Veränderungen noch nicht oder erst in sehr geringem Umfang vorhanden sind.

Inwieweit diese verminderte anaerobe Glykolyse für den Energiehaushalt von Bedeutung ist, läßt sich nach den vorliegenden Daten nicht aussagen, da die Hauptenergiequelle der Nierenrinde die oxydativen, aeroben Stoffwechselvorgänge (vorwiegend der oxydative Fettsäureabbau) sind. Unter Berücksichtigung der konstanten Verhältnisse des ATP-, ADP- und AMP-Gehaltes jedoch scheint es wenig wahrscheinlich, daß eine wesentliche Verminderung des Energiepotentials der Zelle dadurch bewirkt wird.

Die oben beschriebenen Veränderungen spielen sich ausschließlich im C-Raum der Zelle ab (siehe Abschnitt 4.1.1. (0.)).

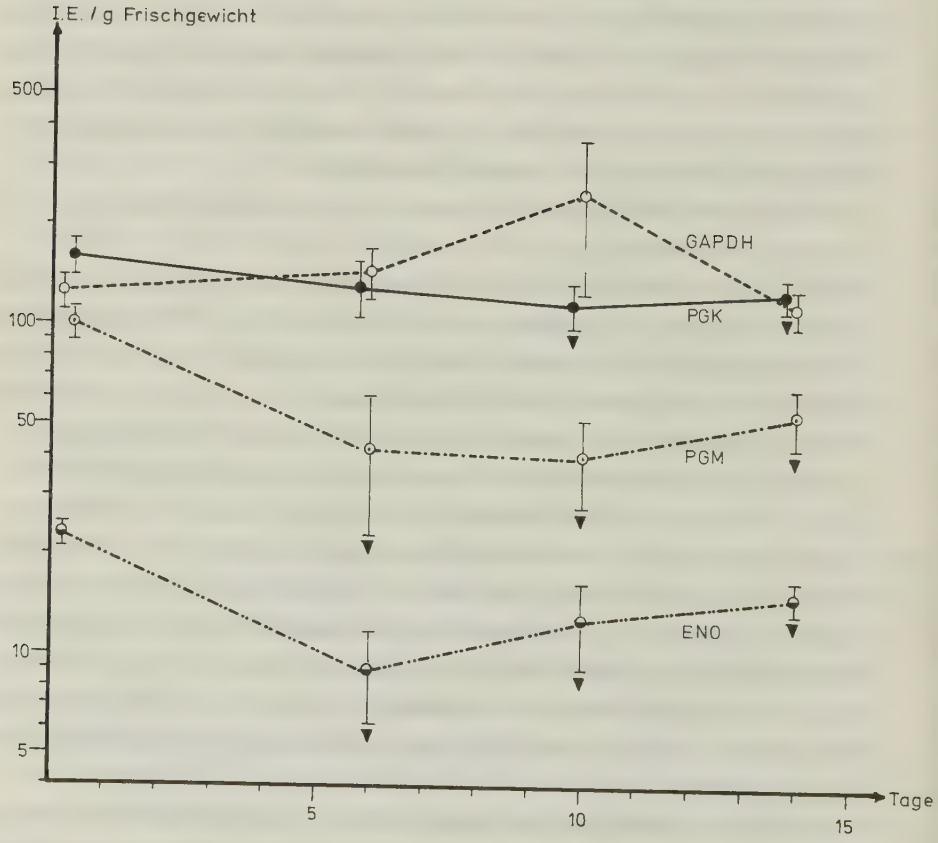
Eine Zuordnung der Aktivitätsänderungen zu bestimmten Strukturen des Nephrons ist nicht möglich. Die Angaben von PHILIPPSON, Chr. [299] sprechen dafür, daß vorwiegend die glomerulären Anteile betroffen sind, während die Mikrodissektionsuntersuchungen an der Rattenniere den proximalen und distalen Tubulus contortus als den in der Nierenrinde gelegenen Teil mit der höchsten glykolytischen Aktivität ausweisen, so daß man in diesen Abschnitten, auch von seiten der mengenmäßigen Zusammensetzung des Gesamthomogenates, den wahrscheinlichsten Ort der Aktivitätsänderung vermuten würde. Wenn man andererseits bedenkt, daß im Bereich der Markstrahlen auch das Sammelrohrsystem mit seinem ausgesprochenen auf die anaerobe Glykolyse angewiesenen Stoffwechsel (siehe dazu LEE, J. B. et al. [222]) bis in die makroskopisch faßbare Nierenrinde reicht, so besteht auch eine gewisse, wenngleich geringe Möglichkeit, daß in diesem Bereich die Veränderungen im Enzymmuster ihren Ursprung haben.

Nach den Untersuchungen von DUBACH, U. C. et al. [96] findet sich bei der immunologisch induzierten, ebenso wie bei der nicht immunologisch induzier-

Abb. 47

ENZYME DER PHOSPHO-TRIOSE-GLYZERAT-GRUPPE

in der Nierenrinde des Kaninchens
bei experimenteller Glomerulonephritis



▼ signifikante Abnahme

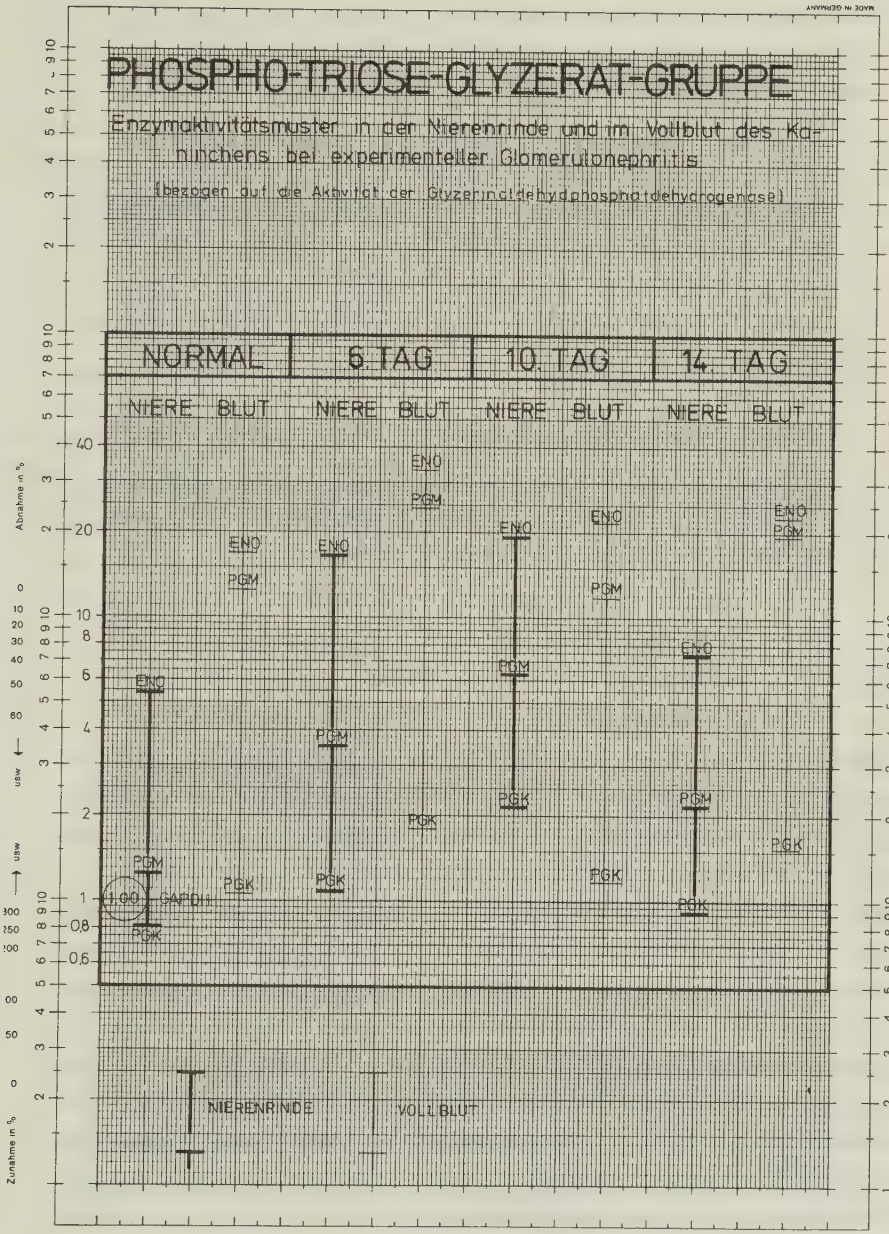

PHOSPHO-TRIOSE-GLYZERAT-GRUPPE
Enzymaktivitätsmuster in der Nierenrinde und im Vollblut des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis
(bezogen auf die Aktivität der Glyzerinaldehydphosphatdehydrogenase)
NORMAL
6 TAG
10. TAG
14. TAG
NIERE
BLUT
ENO
PGM
PGK
GAPDH
1,00
Abnahme in %
Zunahme in %
NIERENRINDE
VOLLBLUT
Eine Achse logar geteilt von 1 bis 10000, Einheit 62,5 mm, die andere in mm mit Prozentmaßstab

Abb. 48

ten, Nephrose der Ratte eine erhöhte Aktivität der Glukose-6-phosphatdehydrogenase am isolierten Glomerulum. FRANZ, H. E. et al. [123] stellten, ebenfalls am isolierten Rattenglomerulum erhöhte Aktivitäten der Laktatdehydrogenase und der Aldolase fest[1]. Die Befunde dieser Arbeit zeigen bei keinem der genannten Enzyme signifikante Unterschiede. Dies ist indes auch nicht zu erwarten, bedenkt man, daß (abgesehen von den verschiedenen Versuchstieren) die Unterschiede der Aktivitäten dieser drei Enzyme zwischen dem Glomerulum und dem tubulären Anteil nicht so exzessiv sind, als daß sich bei einer (zudem nur geringen Aktivitätsänderung in der nur ca. 8 - 10% ausmachenden Glomerulumfraktion, diese Änderung im Gesamthomogenat nachweisen ließe.

(1.0.1.) Vollblut

Die im Vollblut des Kaninchens gemessenen Enzymaktivitäten zeigen unter Berücksichtigung der Serumenzyme (LDH, GAPDH) ein sehr ähnliches Enzymmuster wie die an menschlichen Erythrozyten gemessenen Aktivitäten, wenngleich die absoluten Werte Unterschiede aufweisen

	Kaninchen [I.E./gFg][3]	Mensch [I.E./10^{11} Ery][2] [4]
HK	0.4	1.7 ± 0.3
PGI	9.2	89.0 ± 7.0
FPK	1.9	17.7 ± 2.2
ALD	1.4	5.0 ± 0.5
GAPDH	11.7	212.0 ± 31.2
PGK	9.7	297.0 ± 33.2
PGM	1.5	75.2 ± 10.9
ENO	0.7	37.5 ± 3.7
PK	2.4	41.7 + 6.3
LDH	18.8	270.0 ± 36.7
G-6-PDH	1.1	17.1 ± 2.3
6-PGH	0.3	7.7 ± 0.8

1) FRANZ, H. E. et al. [123] untersuchten die experimentelle Nephritis der Ratte
2) bei $5.0 \cdot 10^{6}$ Ery/10^{-3} ml entspricht dies in etwa [I.E./20 ml Blut]
3) 1 g Blut entspricht in etwa ein ml Blut
4) nach BOCK, H. E. et al. [31]

Die die Durchflußrate begrenzenden Reaktionen sind die durch die folgenden Fermente katalysierten Schritte:

1. Hexokinase ($\bar{x}$: 0.4 I.E./gFg)
2. 1.6.-Diphospho-fruktaldolase ($\bar{x}$: 1.4 I.E./gFg)
3. Enolase ($\bar{x}$: 0.7 I.E./gFg)

Den begrenzenden Schritt der Glukose-Utilisation bildet dabei die durch die Hexokinase katalysierte Phosphorylierung der Glukose und zwar in allen Stadien der Erkrankung. Die Mittelwerte der Hexokinase-Aktivität liegen bereits am 6. und 10. Tag unter dem normalen Mittelwert. Am 14. Tag ist die Hexokinase-Aktivität signifikant erniedrigt. Eine erhebliche, signifikante Verminderung erfährt die Fruktosephosphatkinase-Aktivität am 6. Tag der Erkrankung (von 1.9 I.E./gFg auf 0.3 I.E./gFg), so daß auch hier ein begrenzender Schritt im Reaktionsablauf der Glykolyse vorliegt. Weiterhin finden sich im Ablauf der experimentellen Glomerulonephritis die folgenden Enzyme vermindert, ohne indes ein Ausmaß zu erreichen, daß die von ihnen katalysierten Reaktionen zu geschwindigkeitsbestimmenden Schritten würden:

1. Aldolase (10. Tag)
2. Phosphoglyzeratmutase (6. und 14. Tag)
3. Enolase (6. Tag)

Zusammenfassend kann man sagen, daß sich auch im Vollblut, bzw. als enzymatisch aktivsten Teil desselben, in den Erythrozyten eine verminderte Durchflußrate im glykolytischen Abbauweg festzustellen ist. Diese verminderte Fähigkeit, Glukose als einzigen Energiespender zu utilisieren, hat ihr Maximum am 14. Tag erreicht, an dem die Hexokinase auf 50% des Normalwertes abgesunken ist. Diese eingeschränkte Energieversorgung der Erythrozyten spiegelt sich im beobachteten Zeitraum noch nicht in der Erythrozytenzahl wieder, doch wäre zu erwarten, daß dies infolge der dadurch verkürzten Lebensdauer der Erythrozyten in späteren Stadien in Form einer Anämie der Fall sein könnte. Für die Anämie bei chronischen Veränderungen des Nierenparenchyms machen BOCK, H.-E. et al. [29] [30] [31] den Aktivitätsabfall der Hexokinase infolge der dann bestehenden Azidose verantwortlich. Nach den vorliegenden Befunden besteht bei signifikant erhöhtem Hämoglo-

bingehalt, sowie bei erhöhter Erythrozyten- und Retikulozytenzahl am 14. Tag eine Aktivitäsverminderung der Hexokinase um 50%. Dieser Befund steht nicht unbedingt im Widerspruch zu der von BOCK, H.-E. et al. [29] [30] [31] aufgezeigten Koinzidenz von Anämie und Hexokinase-Aktivitätsverlust, da nach der Deutung dieser und anderer Autoren (vgl. KURTIDES, E. S. et al. [209]) die Anämie auf der verkürzten Lebensdauer der Erythrozyten infolge eines gestörten Energiestoffwechsels derselben beruht. Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 14 Tagen kann sich eine solche verkürzte Lebensdauer aber nicht auf die Erythrozytenzahl wesentlich auswirken. Diese Überlegungen ließen sich dahingehend fortführem, daß zwei Prozesse nebeneinander und mit entgegengesetzter Zielrichtung ablaufen:

1. eine vermehrte Erythrozytenausschwemmung oder eine vermehrte Erythrozytenproduktion
2. ein vermehrter bzw. verfrühter Erythrozytenabbau

Der erste Prozeß überwiegt in der akuten Phase und führt zu einer Steigerung der Erythrozytenzahl. Der zweite Prozeß gewinnt bei dem chronischen Geschehen die Überhand und führt dann zur Anämie. Für diese Folgerung spricht auch die bei chronischen Nierenerkrankungen häufig vorliegende Retikulozytose[1], die so möglicherweise als ein Zustand zu deuten ist, der bereits im akuten Stadium der Erkrankung seinen Ursprung hat. Gegen eine vermehrte Erythropoiese als zweiten, parallelverlaufenden Vorgang spricht der Umstand, daß bei chronisch Nierenkranken eine eher verminderte Zahl an roten blutbildenden Zellen im Knochenmark zu finden ist[2], so daß für den vermehrten Retikulozytengehalt im peripheren Blut nur eine vorzeitige Ausschwemmung jugendlicher Erythrozyten aus dem Knochenmark angenommen werden kann. In der vorliegenden Untersuchung fanden sich keine Verände-

---

1) vgl. dazu DESFORGES, J. F. et al. [83], GALLAGHER, N. I. et al. [127] und KAYE, M. [181]

2) vgl. dazu NAETS, J. P. et al. [270a], DITTRICH, P. v. et al. [84] und BÜCHMANN, P. et al. [56]

rungen im Säure-Basen-Status, so daß als Ursache für den Aktivitätsabfall der Hexokinase, zum mindesten für die akute Glomerulonephritis eine andere Deutung gefunden werden muß[1].

(1.1.) Phosphatstoffwechsel

Die untersuchten Enzyme des Phosphatstoffwechsels umfassen sowohl die unspezifischen Phosphaxohydrolasen (alkalische und saure Phosphatase) sowie spezifische, am Stoffwechsel der energiereichen Phosphate beteiligten Enzyme: Mg^{2+} -Na^{+} -K^{+} -abhängige Adenosintriphosphatase und Myokinase (Adenylatkinase). Da die Aktivitäten der letztgenannten Enzyme möglicherweise für die tubuläre Funktion in der Niere von Bedeutung zu sein scheinen, sollen sie getrennt diskutiert werden.

---

1) Säure-Base-Status des Blutes des Kaninchens bei der experimentellen Glomerulonephritis
(Blutgasmessung mit Radiometer, Kopenhagen; ASTRUP-Mikroausrüstung Typ 1 AME 1)
Die Ergebnisse der Blutgasuntersuchung werden hier nur als Anmerkung angeführt, da sie nicht in allen Krankheitsstadien und bei den pathologischen Tieren auch nicht in allen Fällen durchgeführt wurden und somit als kontrollbedürftig anzusehen sind.

		n	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	P (2α)	Test
pH	Normal	(13)	7.39 ± 0.07	0.02	-		
	10. Tag	(4)	7.37 ± 0.03	0.02	0.60 - 0.70		(t)
	14. Tag	(4)	7.37 ± 0.08	0.04	0.60 - 0.70		(t)
pCO_2	Normal	(9)	34.29 ± 6.41	2.14	-		
	10. Tag	(3)	31.50 ± 6.93	4.00	0.50 - 0.60		(t)
	14. Tag	(3)	32.30 ± 8.59	5.00	0.60 - 0.70		(t)
HCO_3	Normal	(9)	22.23 ± 4.18	1.40	-		
	10. Tag	(3)	20.10 ± 3.60	2.05	0.40 - 0.50		(t)
	14. Tag	(3)	19.70 ± 2.46	1.42	0.30 - 0.40		(t)
BE	Normal	(9)	-1.71 ± 4.32	1.44	-		
	10. Tag	(3)	-5.37 ± 5.33	3.08	0.20 - 0.30		(t)
	14. Tag	(3)	-5.93 ± 3.66	2.11	0.10 - 0.20		(t)

Abb. 49

ADENOSIN - NUKLEOTIDE

in der Nierenrinde des Kaninchens
bei experimenteller Glomerulonephritis

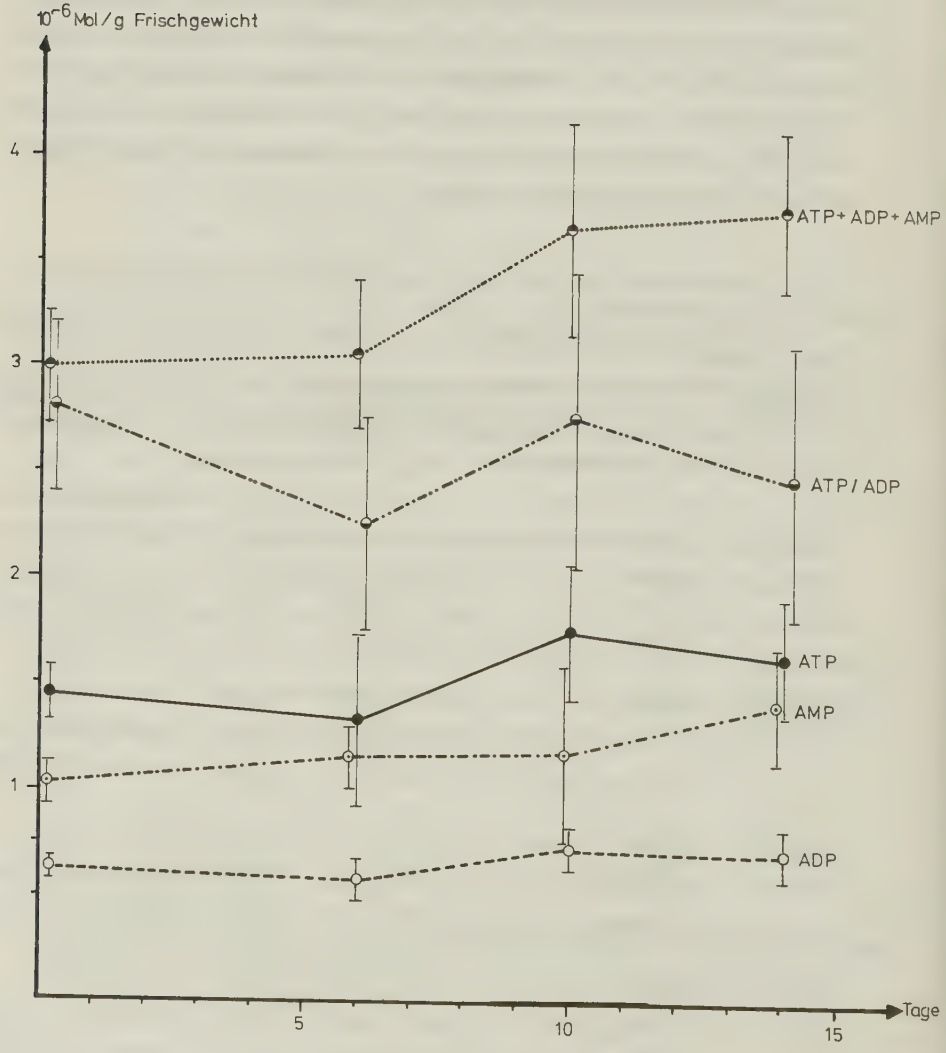
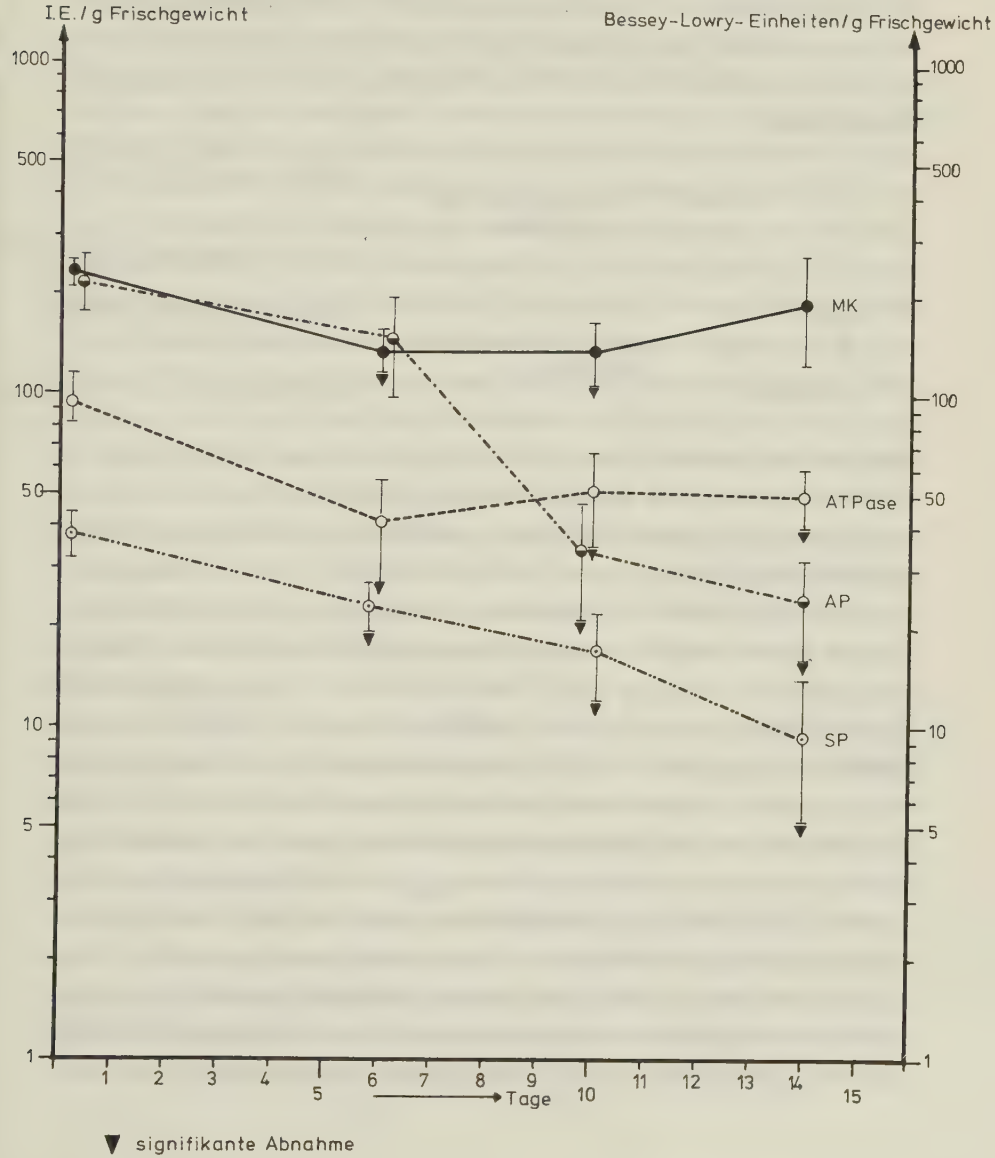


Abb. 50

ENZYME DES PHOSPHATSTOFFWECHSELS

in der Nierenrinde des Kaninchens bei experimenteller Glomerulonephritis



▼ signifikante Abnahme

(1.1.0.) Enzyme des Stoffwechsels der energiereichen Phosphate

1. Niere

Sowohl die Myokinase (6. und 10. Tag), als auch die ATPase (in allen untersuchten Krankheitsstadien) sind auf ca. 50% ihres Ausgangswertes gesunken. Die Gewebsgehalte der Adenosinnukleotide (ATP, ADP, AMP) sind gleichwohl unvermindert; dies wohl deswegen, weil die ATPase-Reaktion und die Myokinase-Reaktion auf den ATP- und ADP-Gehalt einen entgegengesetzten Einfluß haben:

ATP			Erhöhung des ATP-Gehaltes
↕	ATPase	Verminderung der ATPase führt zu	
ADP			Verminderung des ADP-Gehaltes
2 ADP			Erhöhung des ADP-Gehaltes
↕	MK	Verminderung der MK führt zu	
ATP + AMP			Verminderung des ATP-Gehaltes

Nach den Untersuchungen von KINSOLVING, C. R. et al. [190] [191], BADER, H. et al. [15], POST, R. L. et al. [307], SKOU, Ch. [348], WHEELER, K. P. et al. [406] [407], LANDON, E. J. et al. [212] [214], und WHITTAM, R. et al. [409] [410] steht die Mg^{2+} -Na^{+} -K^{+} -abhängige Adenosintriphosphatase in unmittelbarer Beziehung zur aktiven Rückresorption von Na^{+} und K^{+}. Andererseits besteht nach den Untersuchungen von LASSEN, N. A. et al. [219] [220], DEETJEN, P. et al. [77], THURAU, K. [374], KILL, F. et al. [188], WHITTAM, R. et al. [409] [410] und BURCK, H.-Chr. et al. [57] [58] eine Abhängigkeit der Atmung (gemessen am O_2 - Verbrauch) von Nierenrinde und Nierenmark von der Höhe der zellulären Natrium- und Kalium-Konzentration in der Weise, daß aus einer verminderten Natrium- und Kalium-Konzentration in der Tubuluszelle eine verminderte Atmungsleistung mit entsprechend geringerer O_2 - Aufnahme entsteht. Nach den Untersuchungen der oben genannten Autoren werden 75% der Sauerstoffaufnahme der Niere zur Natrium-Rückresorption benötigt, und zwar werden zur Rückresorption von einem Äquivalent Natrium 32-35 mMol Sauerstoff verbraucht. Nur 25% des aufgenommenen Sauerstoffs dient als

basaler O_2 - Verbrauch der Strukturerhaltung.

Die direkte Wirkung auf die Membran-ATPase demonstrierte LANDON, E. J. et al. [212] [214] durch Zugabe von Membran-Fraktion zur Mitochondrienfraktion aus Rattennieren. Er stellte dabei eine signifikante Erhöhung der O_2 - Aufnahme fest. JONES, V. D. et al. [172] fand über die PGK-Reaktion auch einen Zusammenhang zwischen Glykolyse und Membran-ATPase.

Bei verminderter Aktivität der an der aktiven Rückresorption der Elektrolyte Natrium und Kalium beteiligten ATPase während der experimentellen Glomerulonephritis wäre also zu fordern, daß einerseits die zelluläre Natrium- und Kalium-Konzentration sinkt (bei gleichzeitiger Erhöhung der Konzentration dieser Elektrolyte innerhalb des Tubulu-Lumens), sowie eine verminderte Atmungsleistung, d. h. eine verminderte O_2 - Aufnahme des Nierenrindengewebes besteht. Nach AEBI, H. et al. [2] ist der O_2 - Verbrauch von Nierenrindenschnitten während der experimentellen Glomerulonephritis in der Tat um ca. 20% herabgesetzt. Dieser Autor fand allerdings keine Änderung im Natrium- un Kalium-Gehalt des Nierengewebes. Dies muß indes nicht gegen die oben genannte Hypothese sprechen, da für eine derartige Regulation der Atmung durch die Elektrolytaufnahme lediglich die wirkliche Konzentration in der Zelle von Bedeutung ist und zudem die Bestimmung der Elektrolyte in Nierenrindenschnitten nach Inkubation in elektrolythaltigen Lösungen infolge derElektrolytakkumulation, wie sie AEBI, H. et al. [2] selbst beschreiben, kein reales Bild der wirklichen intrazellulären Elektrolytgehalte geben können.

SARRE, H. et al. [328] berichten auf Grund von Messungen mit der Thermostromuhr, der arteriovenösen Sauerstoffdifferenz (AVD_{O2}) sowie intravitaler Tuscheinjektionen über eine vermehrte Durchblutung der Nieren während der experimentellen Glomerulonephritis. SARRE erklärt die während der Nephritis verminderte AVD_{O2} mit einem im Verhältnis zum Sauerstoffverbrauch erhöhtem Blutangebot. Nach THURAU, K. [375] [376] [377] nimmt jedoch im Gegensatz zu anderen Organen, mit steigender Durchblutung der Sauerstoffverbrauch in der normalen Niere proportional zu, so daß trotzt Änderung der Durchblutung die renale AVD_{O2} konstant bleibt. Die Erklärung für dieses Phänomen gibt er mit der Theorie des Natrium-

Rückkoppelungsmechanismus zur Konstanthaltung des Glomerulumfiltrates. Nach den oben ausgeführten Zusammenhängen kann vielleicht der verminderte O_2 - Verbrauch auf den nephritisch bedingten ATPase-Abfall zurückgeführt werden.

Bleibt noch die Frage, wie die vermehrte Durchblutung des Gewebes zu erklären sei. Folgender Mechanismus wäre denkbar: Durch die verminderte ATPase-Aktivität und der entsprechend verminderten Natrium-Rückresorption kommt es wohl im Tubulus-Lumen im Bereich der Macula densa zu einer erhöhten Natrium-Konzentration; ist jedoch auch in diesem Bereich eine verminderte Aktivität der ATPase gegeben, so müßte die intrazelluläre Natrium-Konzentration trotzdem vermindert sein. Betrachtet man die, nach dem von THURAU, K. [377] angegebenen Mechanismus, natrium-abhängige Regulation des Glomerulumfiltrates und damit sekundär auch der Durchblutung als eine aktive Zelleistung, wofür auch die von HESS, R. et al. [160] festgestellte Verminderung der Glukose-6-phosphatdehydrogenase-Aktivität bei vermehrter Reninausschüttung spricht, würde dies, über eine verminderte Renin-Aktivität und damit ebenfalls herabgesetzter Angiotensinbildung, zu einer präglomerulären Vasodilatation führen; dies entspricht auch dem histologischen Bild der weitgestelltn afferenten Arteriolen und der allgemeinen Hyperämie der Nierenrinde (siehe dazu MÖNCH, A. [259]). Demnach wäre die von SARRE, H. [328] nachgewiesene Durchblutungssteigerung zu verstehen als die Folge der Hypertonie bei gleichzeitiger Weitstellung der afferenten Arteriolen, infolge einer, durch die abgesunkene Adenosintriphosphatase-Aktivität, eingeschränkten oder gar aufgehobenen Wirkung der natrium-abhängigen Regulation des Glomerulumfiltrates. Die trotzdem auftretende Minderung der Inulin-Clearance, wie sie übereinstimmend von DUTZ, H. et al. [97], SCHIRMEISTER, J. et al. [335], GUCKELBERGER, M. et al. [151] sowie FOUTS, D. J. et al. [122] beschrieben wird, ist demnach ausschließlich von den glomerulären Veränderungen abhängig.

Zur Diskussion steht weiterhin die Frage nach dem Na-Haushalt. Es wäre nach den obigen Überlegungen eine Natrium-Exkretion zu fordern. GUCKELBERGER, M. et al. [151] finden eine um 35% erhöhte absolute Ausscheidung, eine um 30% erhöhte Natrium-Clearance, aber eine normale prozentuale

Rückresorption. Bei den Blut-Serum-Werten findet MOHR, D. [261] einen initialen Natrium- und Kalzium-Abfall, sowie einen Kalium-Anstieg; doch bilden sich diese Veränderungen am Ende der zweiten Woche der experimentellen Erkrankung wieder zurück. Nach diesen Untersuchungen wäre die Natrium-Rückresorption nicht oder nur gering gestört. Eine Erklärung dafür wäre möglicherweise eine gesteigerte Natrium-Rückresorption im Bereich der Sammelrohre[1], deren Energiebereitstellung nicht durch die Atmung, wie in den proximalen Tubulusabschnitten, sondern durch die anaerobe Glykolyse gewährleistet wird. Zudem wird in den Sammelrohren die Netto-Transportleistung weitgehend durch eine passive Rückflußkomponente bestimmt (siehe dazu ULLRICH, K. J. [383]). Zur genauen Abklärung der Größe, des Ortes und der Kinetik der Natrium-Rückresorption, sowie des gesamten Natrium-Haushaltes (unter Einbeziehung einer möglichen generalisierten Kappilaritis zur Deutung der Ödempathogenese) während der experimentellen Glomerulonephritis des Kaninchens sind indes weitergehende und differenziertere Untersuchungen als die bisher vorliegenden nötig.
Die Frage nach der Ursache der ATPase Aktivitätsverminderung bleibt vorerst ungeklärt. Wohl fanden EDELMANN, J. S. et al. [103], LANDON, E. J. et al. [213] und JORGENSEN, P. L. [173] eine Verminderung der Adenosintriphosphatase-Aktivität in der Niere bei erhöhter Aldosteron-Ausschüttung, doch liegt eine solche vermutlich nicht vor, denn nach den Untersuchungen von KINNE, R. et al. [189] müßte dabei auch die Glyzerinaldehydrphosphatdehydrogenase-Aktivität sinken; dies ist indes nicht der Fall.
Auch das Angiotensin hat einen inhibitorischen Effekt auf die Membran-ATPase (siehe BONTING, S. L. et al. [35]). Nach dem oben ausgeführten Mechanismus über die biochemischen und physiologischen Veränderungen bei der experimentellen Glomerulonephritis kann auch dies nicht die Ursache des ATPase Abfalles sein.

2. Blut

Die Teilnahme der Membran-ATPase am Transportmechanismus der Alkali-Ionen wurde zuerst für die Erythrozytenmembran festgestellt (Übersichten da-

---

1) Über die Natrium-Rückresorption in den Sammelrohren vgl. auch die Arbeiten von WIRZ, H. [415] sowie HILGER, H. H. et al. [164]

zu siehe NETTER, H. [276], PASSOW, H. [288] und WHITTAM, R. et al. [410]). Ein geringer, aber signifikanter, Abfall der Mg^{2+}-Na^{+}-K^{+}-abhängigen Membran-ATPase läßt sich am 14. Tag der Erkrankung auch im Vollblut feststellen. Eine Veränderung im Gehalt der Adenosinnukleotide tritt gleichwohl nicht auf; ebenso bleibt die Myokinase-Aktivität konstant. Möglicherweise kommt es durch die Beeinflussung des aktiven Ionentransportes und des dadurch beeinflußten intrerythrozytären Ionenmilieus u. U. im Zusammenwirken mit dem veränderten Energieumsatz infolge der herabgesetzten Glykolyse zu einer verkürzten Lebensdauer der Erythrozyten und damit im chronischen Verlauf zu einer Anämie. Zur Sicherung dieser These wären indes längere Verlaufsbeobachtungen vonnöten.

(1.1.1.) Unspezifische Phosphohydrolasen

Das Absinken der Aktivitäten der sauren und alkalischen Phosphatase in der Nierenrinde während der experimentellen Glomerulonephritis ist seit langem aus histochemischen (siehe Abschnitt 4.3.0. und biochemischen (siehe HOLMGARD, A. [166]) Untersuchungen bekannt. Die physiologische Bedeutung und die biochemische Wirksamkeit dieses Befundes hat bislang keine Erklärung gefunden. Lediglich WILMER, H. A. [412] versucht eine Korrelation zwischen der funktionellen Tubulusaktivität und dem Phosphatase-Gehalt der Niere herzustellen. Er findet dabei einen Zusammenhang zwischen der Abnahme der Phosphatase-Aktivität der hydronephrotischen Rattenniere und dem Sauerstoffverbrauch und postuliert eine Beteiligung der unspezifischen Phosphatasen an der Hexose-Rückresorption durch die Dephosphorylierung der Hexose-Phosphate. Inwieweit diese festgestellte Korrelation auf einem kausalen Zusammenhang beruht, bleibt indes unklar.

5. SCHLUSSBETRACHTUNG

Zur Klärung von pathogenetischen Kausalketten, an deren Ende die makroskopische und mikroskopische krankhafte Veränderung eines Organes oder Organsystemes steht, haben biochemische Untersuchungen Eingang vor allem in die experimentelle Medizin gefunden. Zur Definition des Zustandes des Intermediärstoffwechsels dienen die Bestimmung der Metabolitengehalte und der Enzymaktivitäten. Ihre höchste Aussagekraft erhalten solche biochemischen Untersuchungen bei Verlaufsbeobachtungen.
Solchen biochemischen Messungen stehen an der Niere nahezu unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen, da die Messungen am Gesamthomogenat eine physiologische Interpretation, infolge der ungewöhnlichen Heterogenität des Organs, schwierig machen. Quantitative histochemische Methoden existieren wohl, doch bietet keine die Möglichkeit die Zwischenstoffkonzentration von Stoffwechselketten zu bestimmen.
So wurde trotzt der oben genannten Interpretationsschwierigkeiten in der vorliegenden Arbeit eine größere Anzahl von Enzymen und Substraten aus dem Kohlehydrat- und Phosphat-Stoffwechsel bestimmt. Durch Vergleich mit den vorliegenden quantitativ histochemischen Untersuchungen konnten physiologische Interpretationen von Konzentrations- und Aktivitätsänderungen wenigstens zum Teil wahrscheinlich gemacht werden.

Die wesentlichsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind die folgenden:

1. Es finden sich bei den Enzymbestimmungen ausschließlich Aktivitätsverminderungen, aber keine Steigerungen von Enzamaktivitäten.
2. Im Nierenrinden-Gesamthomogenat findet sich am 6. Tag der Erkrankung eine signifikant verminderte Hexokinase-Aktivität. Dies kann lediglich als ein Hinweis auf eine verminderte glykolytische Aktivität in der Nieren-

rinde gewertet werden. Der Glukose-6-phosphat-Gehalt erfährt dadurch ebenfalls eine Minderung. Eine physiologische Interpretation der Befunde ist nicht möglich.

3. Im Vollblut findet sich am 14. Tag, dem histologischen Höhepunkt der Erkrankung, eine verminderte Hexokinase-Aktivität, bei gleichzeitig bestehender erhöhter Erythrozytenkonzentration und einer Retikulozytose. Im Zusammenhang mit der beim Menschen festgestellten Anämie (ohne Retikulozytose) bei chronischen Nierenerkrankungen und ebenfalls verminderter Hexokinase-Aktivität bietet sich der Hinweis auf bislang noch nicht geklärte Vorgänge im Bereich des hämatopoetischen Systems während der akuten experimentellen Glomerulonephritis.
4. Bei den "high-level"-Enzymen der Phospho-Triose-Glyzeratgruppe erfolgt ein Enzymaktivitätsabfall der Phosphoglyzerat-Mutase, der Phosphoglyzerat-Kinase und der Enolase unter Wahrung der Aktivitätsproportionen dieser Enzyme untereinander. Biochemisch ist dieser Befund für die Funktion der glykolytischen Stoffwechselkette ohne einschneidende Bedeutung.
5. Der Anstieg des Dihydroxyazetonphosphat-Gehaltes und der Abfall des Laktat-Gehaltes sind vielleicht Hinweise für Kompensationsmechanismen zur Aufrechterhaltung der glykolytischen Funktion auf der Ebene der C_3- und C_2-Verbindungen. Ein sicherer Beweis einer solchen Kompensation ist aus den vorliegenden Daten nicht zu führen.
6. Die unspezifischen Phosphohydrolasen erleiden eine, wie auch schon aus histochemischen Untersuchungen bekannt, drastische Aktivitätsverminderung. Dieser Befund ist bislang weder in seiner biochemischen Wertigkeit, noch in seiner physiologischen Bedeutung zu interpretieren.
7. Trotzt der verminderten Glykolyse ist in keinem Stadium der Erkrankung eine Veränderung am Gehalt der Adenosinnukleotide festzustellen. Dies ist vermutlich auf den, im Gegensatz zum Nierenmark vornehmlich aeroben Stoffwechsel der Nierenrinde zurückzuführen.
8. Die am Stoffwechsel des Adenosintriphosphates beteiligten Enzyme, Mg^{2+} -Na^{+} -K^{+} -abhängige Adenosintriphosphatase und die Myokinase (Adenylatkinase), sind während der experimentellen Glomerulonephritis

in ihrer Aktivität vermindert. Da die Adenosintriphosphatase als Membran-Enzym an der Natrium-Rückresorption wesentlich beteiligt ist, läßt sich daraus eine verminderte Natrium-Rückresorption postulieren. Zudem werden frühere, während der experimentellen Glomerulonephritis erhobene Befunde, wie die verminderte O_2-Aufnahme und die vermehrte Durchblutung der Niere, über den Natrium-Rückkoppelungsmechanismus zur Konstanterhaltung des Glomerulumfiltrates und damit auch der Nierendurchblutung durch diese biochemische Zustandsänderung erklärbar. Der Myokinase-Aktivitätsverlust ist biochemisch und physiologisch bislang nicht zu erklären.

6. ZUSAMMENFASSUNG

1. An normalen Kaninchen und an durch Enten-Antikaninchennieren-Antiserum nephritisch erkrankten Tieren wurden Enzym- und Substratbestimmungen im Nierenrindenhomogenat und im Vollblut am 6., 10. und 14. Tag der Erkrankung vorgenommen. Diese umfaßten Enzyme und Substrate des glykolytischen Abbauweges, Enzyme und Substrate des Pentose-Phosphat-Weges sowie Enzyme und Substrate aus dem Phosphatstoffwechsel.

2. Zur Verlaufskontrolle wurden neben histologischen Untersuchungen die histochemische Darstellung der alkalischen und sauren Phosphatase, der sauren Thiaminpyrophosphatase, der Bernsteinsäuredehydrogenase und der proteingebundenen Sulfhydrylgruppen herangezogen. Weiterhin erfolgte die Bestimmung von Rest-N-Werten, Blutbilduntersuchungen sowie Urinkontrollen auf Eiweiß, Hämoglobin und Glukose.

3. Die Untersuchungen zur Verlaufskontrolle ergaben eine eindeutige, milde verlaufende nephritische Erkrankung der Tiere, die am 14. Tag ihren Höhepunkt erreicht hatte und die im weiteren Verlauf spontan zur Ausheilung kam.

4. Am Nierenrinden-Gesamthomogenat ergeben sich im Vergleich zum Enzymmuster des gesunden Tieres die folgenden signifikanten Enzymaktivitätsverminderungen bei den erkrankten Tieren:
   1. glykolytischer Abbauweg:
      Verminderung der Hexokinase-Aktivität am 6. Tag der Erkrankung.
      Verminderung der Phosphoglukose-Isomerase am 14. Tag der Erkrankung.
      Verminderung der Phosphoglyzerat-Kinase-Aktivität am 10. und 14. Tag der Erkrankung.

Verminderung der Phosphoglyzerat-Mutase- und der Enolase-Aktivität in allen untersuchten Krankheitsstadien.

2. Phosphatstoffwechsel:

Verminderung der alkalischen (10. und 14. Tag) und der sauren Phosphatase (6., 10. und 14. Tag).

Verminderung der Myokinase-Aktivität am 6. und 10. Tag der Erkrankung.

Verminderung der Mg^{2+} -Na^{+} -K^{+} -abhängigen Adenosintriphosphatase-Aktivität in allen untersuchten Krankheitsstadien.

5. Im Vollblut ergeben sich die folgenden signifikanten Enzymaktivitätsverminderungen:

1. glykolytischer Abbauweg:

Verminderung der Hexokinase-Aktivität am 14. Tag der Erkrankung.

Verminderung der Fruktosephosphatkinase-Aktivität am 6. Tag der Erkrankung.

Verminderung der Aldolase-Aktivität am 10. Tag der Erkrankung.

Verminderung der Phosphoglyzeratmutase-Aktivität am 6. und 14. Tag der Erkrankung.

Verminderung der Enolase-Aktivität am 6. Tag der Erkrankung.

2. Phosphatstoffwechsel:

Verminderung der Mg^{2+} -Na^{+} -K^{+} -abhängigen Adenosintriphosphatase-Aktivität am 14. Tag der Erkrankung.

6. Am Nierenrinden-Extrakt lassen sich die folgenden signifikanten Veränderungen der Metabolitengehalte feststellen.

Verminderung des Glukose-Gehaltes am 6. Tag der Erkrankung.

Verminderung des Glukose-6-phosphatgehaltes im 6. und 10. Tag der Erkrankung.

Erhöhung des Dihydroxyazetonphosphat-Gehaltes am 10. und 14. Tag der Erkrankung.

Verminderung des Laktat-Gehaltes in allen untersuchten Krankheitsstadien.

Die Gewebsgehalte der Adenosinnukleotide (ATP, ADP und AMP) sind im Verlauf der Erkrankung unverändert.

7. Im Vollblutextrakt sind keine Veränderungen der Metabolitengehalte zu ermitteln.

8. Aus dem nephritisch bedingten Abfall der Hexokinase-Aktivität wird auf eine verminderte Glykolyseleistung in der Nierenrinde und im Vollblut geschlossen.
   Der im Vollblut verminderten Hexokinase-Aktivität bei erhöhter Erythrozytenzahl wird im Hinblick der beim Menschen festgestellten Hexokinase-Aktivitätsverminderung beo chronischen Nierenerkrankungen mit Anämie besondere Beachtung gewidmet.
   Dem Aktivitätsverlust der Phosphoglyzerat-Mutase, Phoglyzerat-Kinase und Enolase wird kein Einfluß auf die Glykolyseleistung beigemessen.

9. Die Veränderungen der Metabolitengehalte werden als Kompensationsmechanismen zur Aufrechterhaltung der Glykolyseleistung (Dihydroxyazetonphosphat und Laktat) oder als durch den Enzymaktivitätsabfall bedingt (Glukosegehalts-Verminderung durch ATPase-Aktivitäsabfall, und Glukose-6-phosphatgehalt-Verminderung durch Hexokinaseaktivitäts-Abfall) angesehen.

10. Die möglichen Folgen des Aktivitätsabfall der Membran-ATPase auf die physiologischen Funktionen des tubulären Apparates werden diskutiert. Über den ATPAse-Aktivitätsabfall lassen sich die älteren Befunde der verminderten Sauerstoffaufnahme und der vermehrten Nierendurchblutung während der experimentellen Glomerulonephritis, unter Heranziehung der Natrium-Rückkoppelungstheorie zur Regelung des Glomerulumfiltrates, deuten.

7. LITERATURVERZEICHNIS

[1] ADAM, H. und G. CZIHAK

Arbeitsmethoden der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie

1. Auflage, Stuttgart: G. Fischer Verlag, (1964).

[2] AEBI, H. und F. WÜTHRICH

Gewebsatmung, Wasser- und Elektrolythaushalt bei der Masugi-Nephritis

Helv. med. Acta, 20, 502-512, (1953).

[3] ALLEN, J. M. und J. J. SLATER

A cytochemical study of Golgi-associates thiamine -pyrophosphatase in epididymidis of the mouse

J. Histochem. Cytochem., 9, 418-429, (1961).

[4] ALLARD, C., G. de LAMIRANDE, and A. CANTERO

Enzymes and cytological studies in rat hepatoma, transplants, primary liver tumor, and in liver following azo dye feeding or partial hepatectomy

Cancer Research, 17, 862-877, (1957).

[5] ANDERSCH, M. A., and A. J. SZCZYPINSKY

Use of p-nitrophenylphosphate as the substrate in determination of serum acid phosphate

Amer. J. clin. Path., 17, 571-584, (1947).

[6] ALLEYN, A. A. O.

Concentration of metabolic intermediates in kidneys of rats with metabolic acidosis

Nature (London), 217, 847-848, (1968).

[7] ANDRES, G. A., C. MORGAN, K. C. HSU, R. A. RIFKIND, and B. C. SEEGAL

Electron-microscopic studies of experimental nephritis with ferritin-conjugated antibody. The basement membranes and cisternae of visceral epithelial cells in nephritic rat glomeruli

J. exp. Med., 115, 929-936, (1962).

[8] ANDRES, G. A., B. C. SEEGAL, K. C. HSU, M. S. ROTHENBERG, and M. L. CHAPEAU

Electron-microscopic studies of experimental nephritis with ferritin-conjugated antibody. Localisation of antigen-antibody complexes in rabbit glomeruli following repeated injections of bovine serum albumin

J. exp. Med., 117, 691-709, (1963).

[9] ARHELGER, R. B., J. A. GRONVALL, O. B. CARR, and J. G. BRUNSON

Electron-microscopic localisation of nephrotoxic serum in rabbit glomeruli with ferritin-conjugated antibody

Lab. Invest., 12, 33-51, (1963).

[10] ASPIN, A. A.

Tables for use in comparisons whose accuracy involves two variances seperately estimated

Biometrika, 36, 290-296, (1949).

[11] AUDITORE, J. V.

A Na + K activated MgATPase in rabbit kidney mitochondria

Life Sci., 3, 333-341, (1964).

[12] AUTO-ANALYSER^{R} (Technicon^{R}) - Methodolgy

Method file N - 1 c	Urea nitrogen
Method file N - 11 b	Creatinine
Method file N - 4 c	Inorganic phosphate

[13] AXELROD, B.

Glykolysis

in: D. M. GREENBERG (Editor) Metabolic pathways, Vol. 1. Carbohydrates, lipids and related compounds, 2nd edition, p. 97-128.
New York - London: Academic Press, (1960).

[14] AXELROD, B.

Other pathways of carbohydrate metabolism

in: D. M. GREENBERG (Editor) Metabolic pathways, Vol. a. Carbohydrates, lipids and relates compounds, 2nd edition, p. 206-249.
New York - London: Academic Press, (1960).

[15] BADER, H., R. L. POST, and D. H. JEAN

Further characterization of a phosphorylated intermediate in (Na - K) - dependent ATPAse

Biochem. biophys. Acta, 143, 229-238, (1967).

[16] BAHR, G. F., and G. MOBERGER

Histochemical methods for the demonstration of sulfhydryl groups in normal tissues and malignant tumors

Acta Path. Mikrobiol. Scand., 42, 109-132, (1958).

[17] BARANOWSKI, T., and T. R. NIEDERLAND

Aldolase activity of myogen A

J. biol. Chem., 180 , 543-551, (9149).

[18] BARCLAY, J. A., and J. D. SINGH

The isolated renal glomerulus for localization of enzymes

Acta med. Scand., 154, 483-490, (1956).

[19] BARKA, T., and J. P. ANDERSON

Histochemistry
Theory, practise and bibliography
1st edition

New York - Evanston - London: Hoebner medical division, Harper and Row Publisher, (1963).

[20] BARRNETT, R. J., and A. M. SELIGMAN

Histochemical demonstration of sulfhydryl and disulfide groups of protein

J. Nat. Cancer Inst., 14, 769-804, (1953/54).

[21] BARRNETT, R. J., and A. M. SELIGMAN

Histochemical demonstration of protein bound sulfhydryl groups

Science (London), 116, 323-327, (1952).

[22] BAUMANN, G., H. NOLTENIUS und O. v. DEIMLING

Hormonabhängige Enzymverteilung in Geweben IV. Geschlechtsgebundene Verteilungsunterschiede von Glukose - 6 - phosphatase, Succin - dehydrogenase und Aminopeptidase in Mäusenieren

Acta anat., 62, 584-592, (1965).

[23] BAUMANN, G., O. v. DEIMLING und H. NOLTENIUS

Hormonabhängige Enzymverteilung in Geweben II. Histochemische Untersuchungen an Nierenphosphatasen erwachsener Ratten

Histochemie, 4, 150-160, (1964).

[24] BECK, W. S.

Assay of triose phosphates

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (Editors) Methods in enzymology, Vol. III Preparation and assay of substrates, p. 201-206. New-York - London: Academic Press, (1967).

[25] BEISENHERZ, G., H. J. BOLTZE, R. CZOK, Th. BÜCHER, K. H. GARBADE, E. MEYER - ARENDT und G. PFLEIDERER

Diphosphofructose - Aldolase, Phosphoglyceraldehyd - Dehydrogenase, Milchsäure - Dehydrogenase, Glycerophosphat - Dehydrogenase und Pyruvatkinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang

Z. Naturforsch., 8b, 555-570, (1953).

[26] BERGMEYER, H.-U. (Hrsg.)

Methoden der enzymatischen Analyse 2. Auflage

Weilheim, Verlag Chemie, (1962).

[27] BESSEY, O. A., O. H. LOWRY, and M. J. BROCK

A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum

J. bio. Chem., 164, 321-333, (1946).

[28] BOCK, H. E.

Die Blutarmut der Nierenkranken

Med. Welt, 14 N. F., 1-15, (1963).

[29] BOCK, H. E., G. W. LÖHR und H. D. WALLER

Beitrag zur Pathogenese renaler Anämien

Schwz. Med. Wchschr., 92, 1213-1232, (1962).

[30] BOCK, H. E., H. NIETH und K. SOLTH

Anämie bei Niereninsuffizienz

Dtsch. Med. Wchschr., 87, 573-581, (1962).

[31] BOCK, H. E., H. D. WALLER, K. KAUFMANN und G. W. LÖHR

Experimenteller Beitrag zur Entstehung renaler Anämien

Dtsch. Arch. klin. Med., 211, 73-92, (1965).

[32] BOHLE, A., F. MILLER, H. SITTE und A. YOLAC

Frühveränderungen bei der Masuginephritis der Ratte (Elektronenmikroskopische Untersuchungen)

in: P. GRABAR und P. MIESCHER (Hrsg.) Immunopathology, 1st Int. Symp., Basel, 1958, S. 70-81. Basel - Stuttgart: B. Schwabe Verlag (1959).

[33] BONTING, S. L., D. ALTA, A. D. TSOODLE, H. de BRUIN, and B. R. MAYRON

Quantitative histochemistry of the nephron. VII. Various phosphatases in the healthy human kidney

Arch. Biochem., 91, 130-137, (1960).

[34] BONTING, S. L., H. de BRUIN, and V. E. POLLAK

Quantitave histochemistry of the nephron. VI. Hydroxyproline in human glomerulus

J. clin. Invest., 40, 177-180, (1961).

[35] BONTING, S. L., M. R. CANADY, and N. M. HAWKINS

Angiotensin and renal Na - K activated adenosine triphosphatase. (Studies on Na - K activated ATPase, VIII)

Biochim. biophys. Acta, 82, 427-429, (1964).

[36] BONTING, S. L., V. E. POLLAK, R. C. MUEHRCKE, and R. M. KARK

Quantitative histochemistry of the nephron

Science (London), 127, 1342-1343, (1958).

[37] BONTING, S. L., V. E. POLLAK, R. C. MUEHRCKE, and R. M. KARK

Quantitative histochemistry of the nephron.
II. Alkaline phosphatase activity in man and other species

J. clin. Invest., 39, 1372-1380, (1960).

[38] BONTING, S. L., V. E. POLLAK, R. C. MUEHRCKE, and R. M. KARK

Quantitative histochemistry of the nephron.
III. Lactiv dehydrogenase activity in man and other species

J. clin. Invest., 39, 1381-1390, (1960).

[39] BONTING, S. L., and I. M. ROSENTHAL

Effects of the method of tissue preparation on the assay of tissue enzyme activities

Nature (London), 185, 686-687, (1960).

[40] BOYER, P. D., H. LARDY, and K. MYRBAK (Editors)

The Enzymes
(Complete in 8 volumes)
2nd edition

New York - London: Academic Press, (1959-1963).

[41] BOYER, P. D.

Pyruvat kinase

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBAK (Editors) The enzymes, 2nd edition, completely revised. Vol. VI. Hydrolytic cleavage, (Part. B.), p. 95-114. New York - London: Academic Press, (1962).

[42] BRANDAU, H. und D. PETTE

Topische Muster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels im quergestreiften Muskel

Enzymol. biol. clin., 6, 123-156, (1966).

[43] BRANDLEY, S. E., J. H. LARAGH, H. O. WHEELER, M. Mac DONALD, and J. OLIVER

Correlation of structure and function in the handling of glucose by the nephrons of the canine kidney

J. clin. Invest., 40, 1113-1127, (1961).

[44] BREDA - VRIESMAN, P. J. van, and R. G. WILLIGHAGEN

Activity of alkaline phosphatase and isoenzyme pattern in the normal dog glomerulus

Brit. J. exp. Path., 49, 324-330, (1968).

[45] O'BRIEN, M., and H. W. CHASE

Quantitative enzyme histochemistry using frozen-dried glomeruli

Nature (London), 202, 304-305, (1964).

[46] BROSEMER, R. W., W. VOGELL und Th. BÜCHER

Morphologische und enzymatische Muster bei der Entwicklung indirekter Flugmuskel von Locusta migratoria

Biochem. Z., 338, 854-910, (9163).

[47] BÜCHER, Th.

unveröffentlicht; persönliche Mitteilung von Prof. Dr. G. W. LÖHR

[48] BÜCHER, Th.

Über ein phosphorübertragendes Gärungsferment

Biochim. biophys. Acta, 1, 292-320, (1947).

[49] BÜCHER, Th.

Enolase from Brewers yeast

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (Editors) Methods in enzymology, Vol. I. Preparation and assay of enzymes, p. 427-435.
London - New York: Academic Press, (1955).

[50] BÜCHER, Th.

Enzyme unter biologischem Aspekt

in: F. LINNEWEH (Hrsg.) Erbliche Stoffwechselkrankheiten, Genetic defects of biologically active proteins. S. 125-141. 1. Auflage.
München - Berlin: Urban und Schwarzenberg Verlag, (1962).

[51] BÜCHER, Th., and G. PFLEIDERER

Pyruvatkinase from muscle

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (Editors) Methods in enzymology. Vol. I. Preparation and assay of enzymes, p. 435-440.
London - New York: Academic Press, (1955).

[52] BÜCHER, Th. und R. SCHUART

ATP-Test der Firma Boehringer, unveröffentlicht.

[53] BÜCHER, Th. und M. KLINGENBERG

Wege des Wasserstoffs in der lebendigen Organisation

Angew. Chem., 70, 552-570, (1958).

[54] BÜCHER, Th., W. LUH und D. PETTE

Einfache und zusammengesetzte optische Tests mit Pyrimidinnucleotiden

in: HOPPE-SEYLER, THIERFELDER Handbuch der physiologischen und pathologisch - chemischen Analyse.
Bd. VI. Enzyme, Teil A, S. 292 - 339
10. Auflage, Berlin - Heidelberg - New York:
Springer Verlag, (1964).

[55] BÜCHER, Th., E. SCHMIDT, and F. W. SCHMIDT

Serum patterns of "key-pathway" enzymes

in: Proc. 9th Middle East Medical Assembly, Beirut, 1959. p. 36-57.
Beirut: University Press, (1959).

[56] BÜCHMANN, P. und R. STODTMEISTER

Toxische Knochenmarksschädigung bei chronischer Nephritis

Dtsch. Arch. klin. Med., 190, 487-497, (1943).

[57] BURCK, H.-Chr. und F. PETRUCH

Struktur und Funktion der geschädigten Außenzone nach Ischämie als Beitrag zum akuten Nierenversagen

Dtsch. Arch. klin. Med., 212, 313-326, (1966).

[58] BURCK, H.-Chr. und F. PETRUCH

Natriumsabhängige Atmungsveränderungen der Nierenrinde, -außenzone und Leber in vitro

Klin. Wchschr., 45, 1216-1219, (1967).

[59] BUSCH, E. W., H. SCHEITZA und W. THORN

RNS-Gehalt in Gehirn, Leber und Niere nach ischämischer oder anoxischer Belastung

Naturwiss., 49, 545-555, (1962).

[60] McCANN, W. P.

Quantitative histochemistry of dog nephron

Amer. J. Physiol., 185, 372-376, (1956).

[61] CAREDDU, P.

Modificazioni di attivita enzimatiche nella nefrosi sperimentali da siero antirene. I. Quadro istochimico fosfatasi acida a alcalina e della lipase renale

Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 30, 1224-1228, (1954).

[62] CAREDDU, P.

Modificazioni di attivita enzimatiche nella nefrosi sperimentali da siero antirene. II. Determinazione quantitativa della fosfomonoesterasi acida e alcalina e della esterasi tributirrinica renale

Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 30, 1228-1235, (1954).

[63] CARFUNY, E. J., H. S. di STEFANO, and A. FARAH

Cytophotometric determination of protein bound sulfhydryl groups

J. Histochem. Cytochem., 3, 345-349, (1955).

[64] CAVALLI-SFORZA, L.

Grundbegriffe der Biometrie
1. Auflage

Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, (1965).

[65] CHARNOCK, J. S.

Studies of the mechanism of cation transport.
I. The preparation and properties of a cation stimulated ATPase from guinea pig kidney cortex

Aust. J. exp. biol. med. Sci., 41, 547-560, (1963).

[66] CHURG, J., E. GRISHMAN, and W. MAUTNER

Nephrotoxic serum nephritis in the rat, electron and light microscopic studies

Amer. J. Path., 37, 2-17, (1960).

[67] CHURG, J., E. GRISHMAN, and E. MAUTNER

Nephrotoxic serum nephritis in the rat, electron and light microscopic studies

Amer. J. Path., 37, 729-741, (1960).

[68] COLOWICK, S. P., and H. M. KALCKAR

The role of myokinase in transphosphorylations. I. The enzymatic phosphorylation of hexoses by adenylpyrophosphate

J. biol. Chem., 148, 117-129, (1943).

[69] COLOWICK, S. P., and N. O. KAPLAN (Editors)

Methods in enzymology
(12 Volumes)

New York - London: Academic Press, (1955-1967).

[70] COMMISSION ON ENZYMES OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY

Report

London: Pergamon Press, (1961).

[71] COOK, F. W., and G. W. PICKERING

A rapid method for separation glomeruli rabbit kidney

Nature (London), 182, 1103-1104, (1958).

[72] COONS, A. H., and M. H. KAPLAN

Localization of antigen in tissue cells. Improvements in method for detection of antigen by means of flourescent antibody

J. exp. Med., 91, 1-24, (1950).

[73] CORTNEY, M. A., W. NAGEL und K. THURAU

Früh-distale Natriumkonzentration im Rattennephron bei variabler Perfusionsgeschwindigkeit in der HENLE'schen Schleife

Pflügers Arch. ges. Physiol., 287, 286-298, (1966).

[74] CRANE, R. K.

Hexokinases and pentokinases

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (Editors) The enzymes, Vol. VI. Group transfer syntheses coupled to ATP cleavage, p. 47-66.
2nd edition, completely revised. New York - London: Academic Press, (1962).

[75] CRANE, R. K., and A. SOLS

The association of hexokinase with particulate fractions of brain and other tissue homogenates

J. biol. Chem., 203, 273-292, (1953).

[76] DAVISON, K., and D. M. CONNING

Enzyme histochemistry of the normal rat kidney

in: U. C. DUBACH (Editor) Enzymes in urine and kidney. p. 148-152.
Berne - Stuttgart: H. Huber Publisher, (1968).

[77] DEETJEN, P. und K. KRAMER

Die Abhängigkeit des O_2-Verbrauches der Niere von der Na^+-Rückresorption

Pflügers Arch. ges. Physiol., 273, 636-649, (1961).

[78] DEIMLING, O. v.

Hormonabhängige Enzymverteilung in Geweben. I. Histochemischen Untersuchungen über Geschlechtsunterschiede der alkalischen Nierenphosphatase bei erwachsenen Ratten.

Histochemie, 3, 500-508, (1964).

[79] DEIMLING, O. v. und G. BAUMANN

Hormonabhängige Enzymverteilung in Geweben. III. Geschlechtsgebundene Unterschiede der Verteilung von alkalischer Phosphatase und unspezifischer Esterase in Mäusenieren

Histochemie, 4, 213-221, (1964).

[80] DELBRÜCK, A., E. ZEBE und TH. BÜCHER

Über Verteilungsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels im Flugmuskel, Sprungmuskel und Fettkörper von Locusta migratoria und ihre zytologische Zuordnung

Biochem. U., 331, 273-296, (1959).

[81] DELBRÜCK, A., H. SCHIMASSEK, K. BARTSCH und Th. BÜCHER

Enzymverteilungsmuster in einigen Organen und in experimentellen Tumoren der Ratte und der Maus

Biochem. Z., 331, 297-311, (1959).

[82] DENNEMANN, H.

Enzymatische Bestimmung von Adenosintriphosphat im Vollblut

Z. ges. exp. Med., 134, 335-340, (1961).

[83] DESFORGES, J. F., and J. P. DAWSON

The anaemia of renal failure

Arch. int. Med., 101, 326-335, (1958).

[84] DITTRICH, P. v. und H. SARTORIUS

Knochenmarksuntersuchungen über die Normalisierung der Erythropoiese bei den akuten und chronischen Urämien durch Hämodialyse

Klin. Wchschr., 38, 543-556, (1966).

[85] DIXON, M., and E. C. WEBB

Enzymes

2nd edition, completely revised, London: Longman (Green), (1964).

[86] DUBACH, U. C.

Quantitative Histochemie der Niere. Untersuchungen mit Hilfe der LOWRY-Methode am Nephron

Klin. Wchschr., 41, 157-162, (1963).

[87] DUBACH, U. C.

Quantitative Histochenie des menschlichen Nephrons. Normale Niere und nephrotisches Syndrom.

Klin. Wchschr., 43, 753-758, (1965).

[88] DUBACH, U. C.

Quantitative distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase and isocitricdehydrogenase in the human nephron

Experimentia, 21, 263-269, (1965).

[89] DUBACH, U. C.

Enzyme activity in renal disease

Pol. Arch. Med. wewnet., 38, 577-585, (1966).

[90] DUBACH, U. C.

Histochinie quantitative du nephron humaine

Path. Biol. (Paris), 15, 797-802, (1967).

[91] DUBACH, U. C.

Enzymes in urine and kidney
Proceedings of the "International Conference on Enzymes in Urine", Rheinfelden, 1967

Berne - Stuttgart: H. Huber Publisher, (1968).

[92] DUBACH, U. C. und W. JÖSCH

Verhalten von Enzymen in Nierengewebe, Urin und Serum nach toxischer Schädigung des Nephrons der Ratte

Enzymol. biol. clin., 8, 401-412, (1967).

[93] DUBACH, U. C., and L. RECANT

Enzymatic activity of isolated kidney glomeruli in two types of experimental nephrosis

J. clin. Invest., 39, 981-997, (1960).

[94] DUBACH, U. C. und L. RECANT

Aminocleosid-Nephrose. Versuch einer biochemischen Erklärung ätiologisch verschiedener Nephroseformen

Klin. Wchschr., 38, 1177-1181, (1960).

[95] DUBACH, U. C., and L. RECANT

Enzymatic activity of the isolated glomerulus in normal and nephrotic rats

J. clin. Invest., 39, 1364-1369, (1960).

[96] DUBACH, U. C. und L. RECANT

Glomeruläre Fermente bei zwei verschiedenartigen Formen der Nephrose

Klin. Wchschr., 40, 333-337, (1962).

[97] DUTZ, H. und G. KRETZSCHMAR

Nierenfunktionsstudien bei der experimentellen Rattennephritis

Z. ges. esp. Med., 123, 219-224, (1954).

[98] DUVE, C. de

Lysosomes, a new group of cytoplasmatic particles

in: T. HAYASHI (Editor) Sucellular particles, p. 128-159, 1st Edition. New York: Ronald Press, (1959).

[99] DUVE, C. de

Principles of tissue fractionating

J. theoret. Biol., 6, 33-54, (1964).

[100] DUVE, C. de, B. C. PRESSMAN, R. GIANETTO, R. WATTIAUX, and F. APPELMANS

Tissue fractionating studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue

Biochem. J., 60, 604-617, (1955).

[101] DUVE, C. de, R. WATTIAUX, and P. BAUDHUIN

Distribution of enzymes between subcellular fractions in animal tissue

Advanc. enzymol., 24, 291-358, (1962).

[102] EARLE, D. P., J. V. TAGGART, and J. A. SHANNON

Glomerulonephritis. Survey of functional organization of kidney in various stages of diffuse glomerulonephritis

J. clin. Invest., 23, 119-132, (1944).

[103] EDELMANN, J. S., and G. M. FIMOGNARI

Biochemistry of the action of aldosterone on sodium transport

in: Proc. 3rd int. Congr. Nephrol., Washington, 1966. Vol. 1. Physiology, p. 27-34. Basel - New York: Karger Verlag, (1967).

[104] EHRICH, W. E., C. W. FORMAN, and J. SEIFFER

Diffuse glomerular nephritis and lipid nephrosis. Correlation of clinical, morphological and experimental observations

Arch. Path., 54, 463-472, (1952).

[105] EHRICH, W. E., R. E. WOLF, and G. M. BARTOL

Acute experimental glomerulonephritis in rabbits: a correlation of morhological and functional changes

J. exp. Med., 67, 769-790, (1938).

[106] ENDERS, W. und L. FRIEDERICI

Renale Polycythämie

Dtsch. Med. Wchschr., 88, 1512-1518, (1963).

[107] ERÄNKÖ, O.

Quenching tissues for freeze-drying

Acta anat., 22, 331-336, (1954).

[108] ERÄNKÖ, O., and J. HASAN

Enzymatic hydrolysis of thiamine pyrophosphate by frozen sections of rat kidney, adrenal and liver

Acta Path. Microbiol. Scand., 35, 563-584, (1954).

[109] ERÄNKÖ, O., and M. NIEMI

Histochemically demonstrable phosphatases in the kidney of hydronephrotic rats

Acta Path. Microbiol. Scand., 35, 357-369, (1954).

[110] ERDMANN, G.

Experimentelle Nephritis der Jungtiere

Mschr. Kinderheilk., 106, 151-162, (1958).

[111] ERDMANN, G.

Altersunterschiede der immunopathologischen Befunde bei experimenteller Nephritis

in: P. GRABAR, and P. MIESCHER (Editors) Immunopathology, 1st Int. Symp., Basel, 1958, p. 82-98.
Basel-Stuttgart: B. Schwabe Verlag, (1959).

[112] ERICSSON, J. L. E.

Electron microscopy of the normal tubule

in: Proc. 3rd int. Congr. Nephrol., Washington, 1966. Vol. 2. Morphology, Immunology, Urology, p. 1-16.
Basel-New York: Karger Verlag, (1966).

[113] EWING, L. L., E. R. BAIRD, and N. L. VANDEMARK

Comparative metabolic activity of testis and kidney cortex slices of normal and hypoglycemic chickens and rabbits

Comp. Biochem. Physiol., 17, 455-465, (1966).

[114] FELDMANN, J. D., D. HAMMER, and F. J. DIXON

Experimental glomerulonephritis. III. Pathogenesis of glomerula ultrastructural lesions in nephrotixic serum nephritis

Lab. Invest., 12, 748-762, (1963).

[115] FELLENBERGER, R. v., H. EPPENBERGER, R. RICHTERICH und H. AEBI

Das glykolytische Enzymmuster von Leber, Niere, Skelettmuskel, Herzmuskel und Großhirn bei Ratte und Maus

Biochem. Z., 336, 334-350, (1962).

[116] FISCHER, E. R., and J. GRUHN

Histochemical observations concerning some renal enzymes in nephrotoxic nephrosis in the rat

Arch. Path., 64, 664-672, (1957).

[117] FISCHER, F., G. SIEBERT und E. ADLOFF

Charakterisierung von zwei Adenosintriphosphatasen in Schweinenieren-Zellkernen

Biochem. Z., 332, 131-149, (1959).

[118] FISCHER, F. G. und H. DÖRFEL

Nucleoside, Nucleotide, Nucleinsäuren und Nucleoproteide

in: HOPPE-SEYLER, THIERFELDER Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse.
Band IV Bausteine des Tierkörpers, Teil 2
S. 1065-1365, 10. Auflage.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer Verlag, (1960).

[119] FITCH, W. M., and J. L. CHAIKOFF

Extend and patterns of adaption of enzyme activities in liver of normal rats fed diets high in glucose and fructose

J. biol. Chem., 235, 554-557, (1960).

[120] FLORKIN, M., and E. H. STOTZ (Editors)

Comprehensive biochemistry

Amsterdam - London - New York: Elsevier Publishing Company, (ab 1962).

[121] FONG, J. S., and K. N. DRUMMOND

Method for preparation of glomeruli for metabolic studies

J. Lab. clin. Med., 71, 1034-1039, (1968).

[122] FOUTS, D. J., A. C. CORCORAN, and J. H. PAGE

Observations on the clinical and functional course of nephrotoxic nephritis in dogs

Amer. J. med. Sci., 201, 313-329, (1941).

[123] FRANZ, H. E., M. FRANZ und R. KLUTHE

Enzymaktivitäten an isolierten Rattenglomerula bei der Masugi - Nephritis

Klin. Wchschr., 40, 646-648, (1962).

[124] FREY, W.

Die hämatogenen Nierenerkrankungen

in: G. v. BERGMANN, W. FREY und H. SCHWIEGK (Hrsg.) Handbuch der inneren Medizin, Band VIII. W. FREY und F. SUTER (Bearbeiter) Niere und ableitende Harnwege, S. 3-337. 4. Auflage
Berlin - Göttingen - Heidelberg: Springer Verlag, (1951).

[125] FRICK, A. und H. KRAUS

Anaerobe Energiebereitstellung in Nierenrindenschnitten durch Pyruvat

Pflügers Arch. ges. Physiol., 283, 95-103, (1964).

[126] FRITZ, P. J., and M. E. HAMRICK

Enzymatic analysis of adenosintriphosphatase

Enzymologica, 31-I, 57-64, (1966).

[127] GALLAGHER, N. J., J. McCARTHY, K. T. HART, and R. D. LANGE

Evaluation of plasma erythropoietic - stimulating factor in anaemic uremic patients

Blood, 14, 662-671, (1959).

[128] GAYER, J. und H. KNÜFERMANN

Enzym- und Substratbestimmungen in der Nierenrinde bei experimenteller Nephritis - Nephrose des Kaninchens

Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 74, 1078-1081, (1968).

[129] GAYER, J. und H. KNÜFERMANN

Veränderungen im Enzym- und Substratgehalt der Nierenrinde des Kaninchens bei der experimentellen Glomerulonephritis

Klin. Wchschr., 47, 80-86, (1969).

[130] GEIGY, Firma (Hrsg.)

Documenta Geigy - Wissenschaftliche Tabellen
6. Auflage

Basel: Geigy, (1960).

[131] GERCKEN, G., P. v. WICHERT und W. ISSELHARD

ATP/ADP und Lactat:Pyruvat-Quotienten bei aerober und anaerober Glykolyse in Kaninchenerythrozyten

Biochem. Z., 339, 362-373, (1964).

[132] GERLACH, E., W. BADER und W. SCHWOERER

Über den Stoffwechsel säurelöslicher Phosphor-Verbindungen in der Rattenniere

Pflügers Arch. ges. Physiol., 272, 407-433, (1961).

[133] GERLACH, E., B. DEUTICKE, R. H. DREISBACH und C. W. ROSARIUS

Zum Verhalten von Nukleotiden und ihren dephosphorylierten Abbauproduktion in der Niere bei Ischämie und kurzzeitiger post-ischämischer Wiederdurchblutung

Pflügers Arch. ges. Physiol., 278, 296-315, (1963).

[134] GERLACH, E., H. J. DORING, A. FLECKENSTEIN, A. FIKENTSCHER und G. WIRTH

Papierchronatographische Studie über Adenin- und Guanin--Nukleotide, sowie andere säurelösliche Phosphor-Verbindungen des Gehirns bei Narkose, Ischämie und in Abhängigkeit von der Technik der Gewebsentnahme

Pflügers Arch. ges. Physiol., 266, 266-291, (1958).

[135] GERLACH, E., R. H. DREISBACH und B. DEUTICKE

Entstehung von Nucleosiden, Purinen und Pyrimidinen in der Rattenniere bei O_2-Mangel

Naturwiss., 49, 87-88, (1962).

[136] GERLACH, U. und E. SCHÜRMEYER

Stoffwechseluntersuchungen bei experimenteller Nierenschädigung durch Dihydrotachysterin

Z. ges. exp. Med., 132, 295-305, (1960).

[137] GLICK, D.

Techniques of histo- and cytochemistry

New York: Intersicience Publisher, 1st edition, (1949).

[138] GOEGGEL, K. H., G. HIERHOLZER und J. FREY

Säurelösliche Phosphat-Verbindungen (ATP, ADP, AMP, P) in der Mäuseniere bei Verwendung verschiedener Aufarbeitungsmethoden und unter dem Einfluß von Harnstoff

Z. ges. exp. Med., 135, 41-50, (1961).

[139] GOLDFISCHER, S., E. ESSNER, and A. B. NOVIKOFF

The localization of phosphatase activities at the level of ultrastructure

J. Histochem. Cytochem., 12, 72-95, (1964).

[140] GOMORI, G.

Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 42, 23-37, (1939).

[141] GOMORI, G.

The distribution of phosphatase in normal organs and tissue

J. cel.. comp. Physiol., 17, 71-82, (1941).

[142] GOMORI, G.

Microscopic histochemistry
Principles and practïce

1st edition, Chicago: University Press, (1952).

[143] GRAF, E., H.-J. HENNING und K. STANGE

Formeln und Tafeln der mathematischen Statistik
1. Auflage

Berlin - Heidelberg - New York: Springer Verlag, (1966).

[144] GREENBERG, G. M.

Metabolic pathways
Complete in two volumes

2nd edition of "Chemical pathways of metabolism",
New York - London: Academic Press, (1960/61).

[145] GREENSPON, S. A., and C. A. KRAKOWER

Localization of antigen responsible for production of nephrotoxic serum nephritis within isolated renal glomerulus

Fed. Proc., 10, 355-370, (1951).

[146] GREGOIRE, F. et W. GEPTS

L'enzymologie du rein nephrotique etudiée par microdissection et histoenzymologie

Bull. Acad. Roy. Med. Belg., 6, 271-292, (1966).

[147] GREGOIRE, F., and W. GEPTS

Quantitative histochemistry of the kidney in Masugi-nephrosis

in: Abstracts III. Int. Congr. Nephrol., Washington, 1966, Vol. II, p. 202-203. Washington: University Press, (1966).

[148] GRIBETZ, D., M. F. LEAVIT, and D. PANDIRI

Tissue elektrolyte composition in experimental nephrosis of rats after DCA administration

Amer. J. Dis. Childh., 93, 59-62, (1957).

[149] GRIGNANI, F. und G. W. LÖHR

Über die Hexokinase in menschlichen Blutzellen

Klin. Wchschr., 38, 796-804, (1960).

[150] GROOG, E., and A. G. E. PEARSE

A critical study of the histochemical techniques for acid phosphatase

J. Path. Bact., 64, 627-639, (1952).

[151] GUCKELBERGER, M. und R. MONTEIL

Das Verhalten des Glomerulumfiltrates und der tubulären Rückresorption bei der experimentellen Masugi-Nephritis

Schweiz. med. Wchschr., 74, 32-44, (1944).

[152] HALLMANN, L.

Klinische Chemie und Mikroskopie

10. Auflage, Stuttgart, Thieme Verlag, (1966).

[153] HAMMER, K. D., and F. J. DIXON

Experimental glomerulonephritis. II. Immunologic events in the pathogenesis of nephrotoxic serum nephritis in the rat

J. exp. Med., 117, 1019-1034, (1963).

[154] HAMMER, D. K., J. J. VASQUEZ, and F. J. DIXON

Nephrotoxic serum nephritis in newborn rats

Lab. Invest., 12, 8-15, (1963).

[155] HARBERS, E. und G. F. DOMAGK

Die Nucleinsäuren
1. Auflage

Stuttgart: C. Thieme Verlag, (1964).

[156] HARREN, T. und S. HOLLMANN

Über das Verhalten des Vakat-Sauerstoffs bei der experimentellen und menschlichen Nephritis und Nephrose

Dtsch. Arch. klin. Med., 186, 382-390, (1940).

[157] HAYASI, D.

Forschungen über den Komplementtiter des Serum im Verlauf der diffusen Glomerulonephritis des Menschen und der experimentellen Nephritis des Hundes

Mitt. med. Ges. Ciba, 18, 39-52, (1940).

[158] HERS, H. G., J. BERTHET, L. BERTHET, et C. de DUVE

Le système hexophosphatasique. III. Localisation intracellulaire des ferments par centrifugation fractionée

Bull. Soc. chim. biol., 33, 21-41, (1951).

[159] HESS, R.

Die histochemische Analyse enzymatischer Vorgänge im Nierentubulus

in: E. v. BUCHHORN und K. D. BOCK (Hrsg.) Diurese und Diuretica, S. 121-142.
Berlin - Göttingen - Heidelberg: Springer Verlag, (1959).

[160] HESS, R., and F. GROSS

Glucose-6-phosphatedehydrogenase and renin in kidneys of hypertensive or adrenalectomized rats

Amer. J. Physiol., 197, 869-872, (1959).

[161] HESS, R., D. G. SCARPELLI, and A. E. G. PEARSE

Cytochemical lokalization of oxidative enzymes. II. Pyridinnucleotide linked dehydrogenases

J. biophys. biochem. Cytol., 4, 753-761, (1958).

[162] HEYMANN, W., and D. B. HACKEL

The early development of anatomic and blood chemistry changes in the nephrotic syndroms in rats

J. Lab. clin. Med., 39, 429-435, (1952).

[163] HIERONYMI, G., A. BOHLE und F. HARTMANN

Morphologische und elektrophoretische Untersuchungen bei der Masugi-Nephritis an Ratten

Arch. Kreisl.-Forsch., 18, 34-47, (1952).

[164] HILGER, H. H., J. D. KLÜMPER und K. J. ULLRICH

Wasserrückresorption und Ionentransport durch die Sammelrohre der Säugerniere

Pflügers Arch. ges. Physiol., 267, 218-237, (1958).

[165] HOHORST, H. J., F. H. KREUTZ und Th. BÜCHER

Über Metabolitengehalt und Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte

Biochem. Z., 332, 18-46, (1959).

[166] HOLMGARD, A.

Quantitative analysis of enzymes in normal and diseased kidney tissue

Scand. J. clin. Lab. Invest., Suppl to Vol. 14, 1-79, (1962).

[167] HOLMGARD, A.

Isolation of proximal tubules for quantitative measurements of enzymes

in: Proc. 2nd Int. Congr. Nephrol. Prague, 1963, p. 419-421.
Basel - New York: Karger Verlag, (1963).

[168] HOLZER, H., J. HAAN und S. SCHNEIDER

Zum Mechanismus des anaeroben Glucose- und Fructose-Abbaues im Mäuse-Ascites-Carcinom

Biochem. Z., 326, 451-463, (1955).

[168a] siehe Seite 254

[169] HORI, S. H., and J. P. CHANG

Histo-chemical study of adenosine triphosphatase in cytoplasm

J. Histochem. Cytochem., 11, 71-79, (1963).

[170] HURST, R. O.

The determination of nucleotide phosphorus with a stannous chloride-hydrazine sulphate reagent

Canad. J. Biochem., 42, 287-292, (1964).

[171] JOHNSON, M. K.

The intracellular distribution of glycolytic and other enzymes in rat brain homogenates and mitochondrial preparations

Biochem. J., 77, 610-618, (1960).

[172] JONES, V. D., J. L. NORRIS, and E. J. LANDON

Interaction of a rat-kidney endoplasmatic reticulum fraction with glycolytic enzymes

Biochem. biophys. Acta, 71, 277-284, (1963).

[173] JORGENSEN, P. L.

Regulation of the (Na^+-K^+) activated ATP hyrolysing enzyme system in rat kidney. I. The effect of adrenalectomy and the supply of sodium on the enzyme system

Biochim. biophys. Acta, 151, 212-224, (1968).

[174] KALLMANN, F. G.

Substrate specifities and inhibition of intracellular alkaline phosphatases associated with cytoplasmatic granules sedimented by differential centrifugation

J. cellular. comp. Physiol., 38, 137-156, (1951).

[175] KAPLAN, N. O.

Enzymatic determination of free sugars

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (Editors) Methods in enzymology, Vol. IV Preparation and assay of enzymes, p. 107-113.
London - New York: Academic Press, (1963).

[176] KAPLAN, S., and A. B. NOVIKOFF

The localization of ATPase activity in the rat kidney: Electron microscopic study of reaction product in formol-calcium-fixed frozen sections

J. Histochem. Cytochem., 7, 295-307, (1959).

[177] KARK, R. M., H. MATTENHEIMER, S. L. BONTING, V. E. POLLAK, and R. C. MUEHRCKE

Quantitative histochemistry of the nephron

in: G. E. W. WOLSTENHOLME, and M. P. CAMERON (Editors) Ciba Symposion on renal biopsy, p. 309-324.
London: Churchill Ltd., (1961).

[178] KATZ, A. I., and F. H. EPSTEIN

Induction of Na-K-ATPase activity in rat kidney by contralateral nephrectomy

in: Abstracts, III. Int. Congr. Nephrol, Washington, 1966; Vol. II. p. 218.
Amsterdam - London - New York: Karger Verlag, (1966).

[179] KAY, F. C.

Mechanism of a form of glomerulonephritis: nephrotoxic nephritis in rabbits

Amer. J. med. Sci., 204, 483-497, (1942).

[180] KAY, F. C.

The mechanism by which experimental nephritis is produced in rabbits injected with nephrotoxic duck serum

J. exp. Med., 72, 559-571, (1940).

[181] KAYE, M.

The anaemia associated with renal disease

J. Lab. clin. Med., 52, 83-95, (1958).

[182] KAZIMIERCZAK, J.

Histochemical study of oxidatice enzymes in rabbit kidney before and after birth

Acta anat., 55, 352-367, (1963).

[183] KEAN, L. E., H. P. ADAMS, R. W. WINTERS, and R. E. DAVIES

Energy metabolism of the renal medulla

Biochim. biophys. Acta, 54, 474-489, (1961).

[184] KEIL, B., V. HEROUT, M. PROTIVA, M. HUDLICKY, I. ERNEST und J. GUT

Laboratoriumstechnik der organischen Chemie
1. Auflage

Berlin: Akademie Verlag, (1961).

[185] KEIL, B. und Z. SORMOVA (Hrsg.)

Laboratoriumsrechnik für Biochemiker
1. Auflage

Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft, Geest und Portig, KG., (1965).

[186] KELLER, H. M.

Veränderungen des roten Blutbildes bei Nierenerkrankungen

in: H. SCHWIEGK (Hrsg.) Handbuch der inneren Medizin, Band VIII. Nierenerkrankungen, Teil 2, S. 169-230.
5. Auflage, Berlin - Heidelber - New York: Springer Verlag, (1968).

[187] KIELLEY, W. W.

Acid anhydride hydrolysis

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (Editors) The enzymes, Vol. 5. Hydrolytic cleavage, Part B, p. 149-157.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1961).

[188] KILL, F., K. AUKLAND, and H. E. REFSUM

Renal sodium transport and oxygen consumption

Amer. J. Physiol., 201, 511-516, (1961).

[189] KINNE, R. und R. KIRSTEN

Der Einfluß von Aldosteron auf die Aktivität mitochondrialer und cytoplasmatischer Enzyme in der Rattenniere

Pflügers Arch. ges. Physiol., 300, 244-254, (1968).

[190] KINGSOLVING, C. R., and R. L. POST

Identification of a transport adenosine triphosphatase activity in guniea pig kidney

The Physiologist, 3, 94-97, (1960).

[191] KINSOLVING, C. R., R. L. POST, and D. L. BEAVER

Sodium plus potassium transport adenosine triphosphatase activity in kidney

J. cel.. comp. Physiol., 62, 85-97, (1963).

[192] KISSANE, J. M.

Quantitative histochemistry of the kidney. I. Segmental distribution of enzymes in the renal proximal tubule of normal rats

J. Histochem. Cytochem., 9, 578-583, (1961).

[193] KISSANE, J. M., and R. H. HEPTINSTALL

Experimental hydronephrosis: micro-enzymatic studies

in: Proc. II Int. Congr. Nephrol., Prague, 1963, p. 428-431.
Basel - New York: Karger Verlag, (1963).

[194] KISSANE, J. M., and E. HOFF

Quantitative histochemistry of the kidney: II. Enzymatic activities in glomeruli and proximal tubules in aminonucleoside nephrosis in rats

J. Histochem. Cytochem., 10, 259-268, (1962).

[195] KLEIN, P.

Über die licht-optische Darstellung der Complementbindung in der Masugi-Niere mittels bezeichnetem Antikomplement

Allergie und Asthma, 4, 306-316, (1961).

[196] KLEIN, P. und P. BURKHOLDER

Ein Verfahren zur fluoreszenzoptischen Darstellung der Komplementbindung und seiner Anwendung zur histo-immunologischen Untersuchung der experimentellen Nierenanaphylaxie

Dtsch. med. Wchschr., 84, 2001-2005, (1959).

[197] KLEINZELLER, A., J. KOLINSKA, and J. BENES

Transport of glucose and galactose in kidney cortex cells

Biochem. J., 104, 843-851, (1967).

[198] KLENOW, H., and R. EMBERLAND

The enzymatic reaction between ribose - 1 - phosphate and glucose - 1.6. - diphosphate

Arch. Biochem., 58, 276-287, (1955).

[199] KLUTHE, R., E. SAMMET und A. MOENCH

Experimentelle Beiträge zur Pathogenese des nephrotischen Syndroms. III. Mitteilung: Über den Verlauf der Masugi-Nephritis nach Plasmapherese

Z. ges. exp. Med., 133, 609-617, (1960).

[200] KORNBERG, A., and B. L. HORECKER

Glucose - 6 - phosphate dehydrogenase

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (editors) Methods in enzymology, Vol. I. Preparation and assay of enzymes, p. 323-327. London - New York: Academic Press, (1955).

[201] KRAKOWER, C. A., and S. A. GREENSPON

Localization of nephrotoxic antigen within isolated renal glomerulus

Arch. Path., 51, 629-642, (1951).

[202] KRAKOWER, C. A., and S. A. GREENSPON

Factors leading to variation in concentration of "nephrotoxic" antigen (s) of glomerular basement membrane

Arch. Path., 58, 401-415, (1954).

[203] KRAML, M.

A semi-automated determination of phospholipids

Clin. chim. Acta, 13, 442-448, (1966).

[204] KREBS, H. A.

Renal gluconeogenesis

Advan. Enzyme Regulation, 1, 385-400, (1963).

[205] KREYSZIG, E.

Statistische Methoden und ihre Anwendung
1. Auflage

Göttingen: Landenhoeck und Ruprecht, (1965).

[206] KUBOWITZ, T. und P. OTT

Isolierung von Gärungsfermenten aus menschlichen Muskeln.

Biochem. Z., 317, 193-209, (1944).

[207] KUBOWITZ, T. und P. OTT

Isolierung und Kristallisation eines Gärungsfermentes aus Tumoren

Biochem. Z., 314, 94-108, (1943).

[208] KUNKEL, P. A.

The number and size of glomeruli in the kidney of several mammals

Bull. John Hopkins Hosp., 47, 285-297, (1930).

[209] KURTIDES, E. S., A. W. RAMBACH, H. L. ALT, and F. del GRECO

Effect of hemodialysis on erythrokinetics in anaemia of uremia

J. Lab. clin. Med., 3, 469-475, (1964).

[210] KUTTER, D.

Diagnostische Leistungsfähigkeit der Schnelltests

Internist, 8, 420-425, (1967).

[211] LACHMANN, P. J., H. J. MÜLLER-EBERHARD, H. G. KUNKEL, and F. PARONETTO

The localization of in vivo bound complement in tissue sections

J. exp. Med., 115, 63-69, (1962).

[212] LANDON, E. J.

Interaction of mammalian kidney membrane and mitochondria in vitro

Biochim. biophys. Acta, 143, 518-521, (1967).

[213] LANDON, E. J., N. JAZAD, and L. FORTE

Aldosterone and sodium-potassium-dependent ATPase activity of rat kidney membranes

Amer. J. Physiol., 211, 1050-1056, (1966).

[214] LANDON, E. J., and J. L. NORRIS

Sodium- and potassium-dependent adenosine triphosphatase activity in a rat kidney endoplasmatic reticulum fraction

Biochim. biophys. Acta, 71, 266-276, (1963).

[215] LANG, K. und G. SIEBERT

Untersuchungen über Stoffwechselborgänge an isolierten Zellkernen. Über Energielieferung durch Glykolyse und ATP-Splatung sowie über das Vorkommen von Dehydrasen an isolierten Zellkernen

Biochem. Z., 322, 196-204, (1951).

[216] LANGE, K., and E. J. WENK

Investigations into the site of complement loss in experimental nephritis

Amer. J. med. Sci., 228, 454-464, (1954).

[217] LANGE, K., E. J. WENK, M. WACHSTEIN, and J. NOBLE

The mechanism of experimental glomerulonephritis produced in rabbits by avian antikidney sera

Amer. J. med. Sci., 236, 767-782, (1958).

[218] LARDY, H.

Phosphohexokinases

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. VI Group transfer syntheses coupled to ATP cleavage, p. 67-74.
2nd edition, completely revised. New York - London: Academic Press, (1962).

[219] LASSEN, N. A., O. MUNCK, and J. H. THAYSEN

Oxygen sonsumption and sodium readsorption in the kidney

Acta Physiol. Scand., 51, 371-384, (1961).

[220] LASSEN, N. A., and J. THAYSEN

Correlation between sodium transport and oxygen consumption in isolated renal tissue

Biochim. biophys. Acta, 47, 616-618, (1961).

[221] LAZARUS, S. S., and H. BARDEN

Histochemistry and electron microscopy of mitochondrial adenosinetriphosphatase

H. Histochem. Cytochem., 10, 285-293, (1962).

[222] LEE, J. B., V. K. VANCE, and G. F. CAHILL

Metabolism of C^{14}-labeled substrates by rabbit kidney cortex and medulla

Amer. J. Ohysiol., 203, 27-36, (1962).

[223] LIEBERMANN, G. J., and D. B. OWEN

Tables of the hypergeometric probability distribution
1st edition, Stanford: University Press, (1961).

[224] LINDEMANN, W.

Sur la mode d'action de certains poisons renaux

Ann. Inst. Pasteur, 14, 49-55, (1900).

[225] LINDEMANN, W.

Über das Wesen der toxischen Nephritis

Zbl. allg. path. Anat., 11, 308-319, (1900).

[226] LINDERSTRØM-LANG, K. U.

Proteins and enzymes

in: The Lane Medical Lectures, p. 37-53,
Stanford: University Press, (1952).

[227] LINDERSTRØM-LANG, K. und H. HOLTER

Die enzymatische Histochemie

in: E. BAMANN und K. MYRBÄCK (Hrsg.)
Die Methoden der Fermentforschung, Band I.
S. 1132-1162.
1. Auflage, Leipzig: G. Thieme Verlag, (1941).

[228] LINDERSTRØM-LANG, K., H. HOLTER, and A. S. OHLSEN

Studies on enzymatic histochemistry. XIII.
The distribution of enzymes in the stomach of pigs

Compt.-rend. Lab. Carlsberg, Serie chim., 20, 66-125, (1935).

[229] LINDERSTRØM-LANG, K., and H. LANZ

Studies on enzymatic histochemistry. XXIX.
Dilatometric micro-estimation of peptidase activity

Compt.-rend. Lab. Carlsberg, Serie chim., 21, 315-338, (1938).

[230] LINDERSTRØM-LANG, K., and K. R. MØGENSEN

Studies on enzymatic histochemistry. XXXI.
Histological control of histochemical investigations

Compt.-rend. Lab. Carlsberg, Serie chim., 23, 27-35, (1938).

[231] LING, K. H., W. L. BYRNE, and H. LARDY

Phosphohexokinase

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (editors)
Methods in enzymology, Vol. I. Preparation and assay of enzymes, p. 306-312.
London - New York: Academic Press, (1955).

[232] LÖHR, G. W. und F. GRIGNANI

Über die Hexokinase in menschlichen Blutzellen

Klin. Wchschr., 38, 796-810, (1960).

[233] LOWELL, D. J., S. A. GREENSPON, C. A. KRAKOWER, and J. A. BAIN

Metabolic activity of renal cortical tubular epithelial cell

Amer. J. Physiol., 172, 709-717, (1953).

[234] LOWRY, H. O.

The quantitative histochemistry of the brain.
I. Histological sampling

J. Histochem. Cytochem., 1, 420-428, (1953).

[235] LOWRY, H. O., N. R. ROBERTS, M.-L. WU, W. S. HIXON, and E. J. CRAWFORD

The quantitative histochemistry of the brain. II. Enzyme measurements

J. biol. Chem., 207, 19-37, (1954).

[236] LOWRY, H. O.

Micromethods for the assay of enzymes

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (editors) Methods in enzymology, Vol. IV. Special techniques for the enzymologist, p. 366-381. London - New York: Academic Press, (1957).

[237] LOWRY, H. O., N. R. ROBERTS, and J. J. KAPPHAHN

The fluorimetric measurement of pyridine nucleotides

J. biol. Chem., 224, 1047-1064, (1957).

[238] MAHLER, H. R., and E. H. CORDES

Biological chemistry
3rd edition

New York - Evanston - London - Tokyo: Harper and Row Publisher/John Weatherhill Inc., (1966).

[239] MALMSTRÖM, B. G., and M. LARSSON-RAZNIKIEWICZ

3-Phosphoglycerate kinase

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. VI Group trnasfer syntheses coupled to ATP cleavage, p. 85-94.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1962).

[240] MALMSTRÖM, B. G.

Enolase

in: P. D. BOYER, H. LARDYm and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. V. Hydrolytic cleavage, Part B, p. 471-494.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1961).

[241] MANDEL, P.

Free nucleotides in animal tissues

in: Z. N. DAVIDSON, and W. E. COHN (editors) Progress in nucleic acid research and molecular biology, Vol. III, p. 299-334.
New York - London: Academic Press, (1964).

[242] MARSH, W. H., B. FINGERHUT, and H. MILLER

Automated and manual direct methods for the determination of blood urea

Clin. Chem., 11, 624-627, (1965).

[243] MASUGI, M.

Über das Wesen der spezifischen Veränderungen der Niere und der Leber durch das Nephrotoxin bzw. das Hepatotoxin. Zugleich ein Beitrag zur Pathogense der Glomerulonephritis und der eklamptischen Leber-erkrankung

Beitr. path. Anat., 91, 82-105, (1933).

[244] MASUGI, M.

Über die experimentelle Glomerulonephritis durch das spezifische Antinierenserum. Ein Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis

Beitr. path. Anat., 92, 429-466, (1934).

[245] MASUGI, M.

Zur Pathogense der diffusen Glomerulonephritis als allergische Erkrankung der Niere

Klin. Wchschr., 14, 373-376, (1935).

[246] MASUGI, M.

Die Pathogense der diffusen Glomerulonephritis im Lichte experimenteller Erzeugung dieser Nierenerkrankung bei Tieren

Zbl. inn. Med., 56, 417-430, (1935).

[247] MASUGI, M. und T. ISHIBASI

Über allergische Vorgänge bei Allgemeininfektion vom Standpunkt der experimentellen Forschung. Zugleich ein Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis und der Periarteriitis nodosa

Beitr. path. Anat., 96, 391-415, (1936).

[248] MASUGI, M. und Y. SATO

Über die allergische Gewebsreaktion der Niere. Zugleich ein experimenteller Beitrag zur Pathogenese der diffusen Glomerulonephritis und der Periarteriitis nodosa

Virchows Arch. path. Anat., 293, 615-642, (1934).

[249] MATTENHEIMER, H.

Enzymology of kidney tissue

in: U. C. DUBACH (editor) Enzymes in urine and kidney, p. 119-145.
Berne - Stuttgart: H. Huber Publisher, (1968).

[250] MATTENHEIMER, H., and V. E. POLLAK

Enzyme activity in the kidney. Quantitative aspects of enzyme distribution in cortex, and medulla of man, dog, and rat

in: H. E. KASS (editor) Progress of pyelonephritis, p. 312-345.
Philadelphia: F. A. DAVIS Comp., (1965).

[251] MATTENHEIMER, H., V. E. POLLAK, and H. deBRUIN

Quantitative histochemistry of the nephron. IX. Distribution and activity of various enzymes in the kidney of the dog

Enzymol. biol. clin., 4, 107-120, (1964).

[252] MATTENHEIMER, H., V. E. POLLAK, R. C. MUEHRKE, und R. M. KARK

Quantitative Enzymverteilung am Nephron

Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 70, 579-582, (1964).

[253] MEDWEI, C. V.

Über ein bemerkenswertes Zusammentreffen von Arthritis urica, Erythraemia Typ Vaquez und Hypernephroma malignum

Wien. Arch. inn. Med., 24, 417-426, (1934).

[254] MELLORS, R. C.

Histochemical demonstration of the in vivo localization of antobodies: antigenic components of the kidney and the pathogenesis of glomerulonephritis

J. Histochem. Cytochem., 3, 284-289, (1955).

[255] MENTEN, M. L., J. JUNGE, and M. H. GREEN

A coupling histochemical azodye test for alkaline phosphatase in the kidney

J. biol. Chem., 153, 471-475, (1944).

[256] METKOFF, J., T. YOSHIDA, F. YAMASHITA, E. KAISER, and M. PICARDO

The effect of intracellular ion composition on intermediary metabolism during experimental nephrotic syndrome

in: Proc. 1st Congr. Nephrol., 1961.
p. 583-585.
Basel - New York: Karger Verlag, (1961).

[257] MIGONE, L., S. AMBROSELI et A. BORGHETTI

Attivida enzimatische del rene nelle nefride spermentale da entero antikorpi

Minerva nefrol., 4, 4-17, (1957).

[258] MILLER, R. und A. BOHLE

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Glomerulum bei der Masugi-Nephritis der Ratte

Virchows Arch. path. Anat., 330, 483-495, (1957).

[259] MOENCH, A.

Untersuchungen zur Pathogense des nephrotischen Syndroms. Zugleich ein Beitrag zur Pathogense der genuinen Lipoidnephrose

Habil. schrift, Freiburg, (1956).

[260] MOENCH, A., K. ROTHER, H. SARTORIUS und G. KRONEBERG

Die vorwiegend entzündliche Phase der experimentellen Nephritis-Nephrose bei Kaninchen in ihrer Abhängigkeit von der Nephrotoxindosis. Zugleich ein Beitrag zur Methodik der Nephrotoxinherstellung

Z. ges. exp. Med., 126, 471-485, (1955).

[261] MOHR, D.

Flammenphotometrische Serumelektrolytuntersuchungen (Natrium, Kalium und Calcium) bei experimentellen Nierenerkrankungen des Kaninchens

Inaug. Diss. Freiburg, (1956).

[262] MÖLBERT, R. G., F. DUSPIVA, and O. H. von DEIMLING

The demonstration of alkaline phosphatase in the electron microscope

J. biophys. biochem. Cytol., 7, 387-390, (1960).

[263] MÖLBERT, E., F. DUSPIVA und O. H. von DEIMLING

Die histochemische Lokalisation der Phosphatase in der Tubulusephithelzelle der Mäuseniere im elektronenmikroskopischen Bild

Histochemie, 2, 5-22, (1960).

[264] MÖRS, H.

Das Krankheitsbild der tierexperimentellen Nephritis im akutem Stadium

Dtsch. Arch. klin. Med., 183, 475-492, (1939).

[265] MÖRS, H. und G. HOPP

Beobachtungen über Veränderungen des Blutbildes und der Serumeiweißkörper bei der experimentellen Masugi-Nephritis des Kaninchens

Dtsch. Arch. klin. Med., 186, 466-477, (1940).

[266] MOVAT, H. Z., D. D. McGREGOR, and J. W. STEINER

Studies of nephrotoxic nephritis. II. The fine structure of the glomerulus in acute nephrotoxic nephritis of dogs

Amer. J. clin. Path., 36, 306-321, (1961).

[267] MOVAT, H. Z., and J. W. STEINER

Studies of nephrotoxic nephritis. I. The fine structure of glomerulus of the dog

Amer. J. clin. Path., 36, 289-305, (1961).

[268] MUEHRKE, R. C., and S. L. BONTING

Effect of K-depletion on lacdic dehydrogenase activity in the rat nephron

Nature (London), 196, 70-72, (1962).

[269] MUEHRKE, R. C., H. MATTENHEIMER, V. E. POLLAK, S. ROSEN, R. M. KARK, and H. JOHNSON

Electron microscopic and quantitatice ultramicro-biochemical studies of hypokalemic nephropathie in man and animal

in: Proc. 2nd Int. Congr. Nephrol., Prague, 1963

p. 471-478.
Basel - New York: Karger Verlag, (1963).

[270] MÜLLER, W., H. ZÖLLNER und W. PLENER

Histochemische Studien zur Spaltung con Aneurindisphosphat in menschlicher Haut

Histochemie, 2, 58-70, (1960).

[270a] siehe Seite 254

[271] NAGANO, M., A. HEILAND, K. KLÜTSCH und H. HOCHREIN

Enzymaktivität der Nieren bei akuter experimenteller Hypokaliämie

Klin. Wchschr., 41, 605-606, (1963).

[272] NAGANO, M. und H. E. SCHAEFER

Methode zur Isolierung und Bestimmung von Enzymaktivitäten im Rattenglomerulum

Klin. Wchschr., 41, 1203-1207, (1963).

[273] NAGANO, M. und H. E. SCHAEFER

Enzymaktivitäten an isolierten Glomerula normaler und pathologisch veränderter Rattennieren

in: F. REUBI und H. G. PAULI (Hrsg.)
Das nephrotische Syndrom. Aktuelle Probleme der Nephrologie. II. Symp. Ges . Nephrol., S. 185-197.
Stuttgart: G. Thieme Verlag, (1963).

[274] NAIDOO, D.

Thiamin-diphosphatase, a histochemical study

J. Histochem. Cytochem., 10, 580-591, (1962).

[275] NAJJAR, V. A.

Phosphoglucomutase

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors)
The enzymes, Vol. VI. Group transfer syntheses coupled to ATP cleavage, p. 161-178.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1962).

[276] NETTER, H.

Mögliche Mechanismen und Modelle für aktive Transportvorgänge

in: Biochemie des aktiven Transports. 12. Colloqu. Ges. physiol. Chem., S. 15-53. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer Verlag, (1961).

[277] NEWBURGH, R. W., and V. H. CHELDELIN

The intracellular distribution of pentose cyclic activity in rat kidney and liver

J. biol. Chem., 218, 89-96, (1956).

[278] NEWSHOLME, E. A., and W. GEVERS

Control of glykolysis and gluconeogenesis in liver and kidney cortex

Vitamins Hormones, 25, 1-87, (1967).

[279] NODA, L.

Nucleoside triphosphate - nucleoside monophosphokinases

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. VI. Group transfer syntheses coupled to ATP cleavage, p. 139-150. 2nd edition, completely revised. New York - London: Academic Press, (1962).

[280] NOLTMANN, E. A., and S. A. KUBY

D-Glucose-6-phosphate-and 6-Phosphogluconate-dehydrogenase

in: P. D. BOYER, H. LARDYm and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. VII. Oxydation and reduction. Part. A. Nicotinamide nucleotide-linked enzymes, p. 223-242. 2nd edition, completely revised. New York - London: Academic Press, (1963).

[281] NOVIKOFF, A. B.

Lysosomes and related particles

in: J. BRACHT, and A. E. MIRSKY (editors) The cell Vol. II. p. 423-488. London-New York: Academic Press, (1961).

[282] NOVIKOFF, A. B., L. J. HECHT, E. PODBER, and J. RYAN

Phosphatases of rat liver
I. The dephosphorylation of adenosinetriphosphate

J. biol. Chem., 194, 153-170, (1952).

[283] NOVIKOFF, A. B., W.-Y. SHIN, and J. DRUCKER

Cold aceton fixation for enzyme localization in frozen sections

J. Histochem. Cytochem., 8, 37-40, (1960).

[284] NOWINSKI, W. W., U. CARPENTIERI, and W. C. MAHAFFEY

Glutamic dehydrogenase and alkaline phosphatase in compensatory hypertrophy of the rat kidney

Proc. Soc. Exp. Med., 129, 26-29, (1968).

[285] OGUR, M., and G. ROSEN

The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of DNA and RNA

Arch. Biochem., 25, 262-276, (1950).

[286] OLIVER, J., and M. Mac DOWELL

The structural and functional aspects of the handling of glucose by the nephrons and the kidney and their correlation by means of structural - functional equivalents

J. clin. Invest., 40, 1093-1112, (1961).

[287] ORTEGA, L. G., and R. C. MELLORS

Analytical pathology. IV. The role of localized antibodies in the pathogenesis of nephrotixic nephritis in the rat

J. exp. Med., 104, 151-169, (1956).

[288] PASSOW, H.

Zusammenwirken von Membranstruktur und Zellstoffwechsel bei der Regulierung der Ionenpermeabilität roter Blutkörperchen

in: Biochemie des aktiven Transports, 12. Colloqu. Ges. physiol. Chem., 1961, S. 54-83.
Berlin - Göttingen - Heidelberg: Springer Verlag, (1961).

[289] PAUNZ, L.

Experimental histotoxic nephritis
1st edition

Budpest: Verlag Akademiai Kiado, (1965).

[290] PEARSE, A. G. E.

Azo dye methods in enzyme histochemistry

Int. Rev. Cytol., 3, 329-351, (1954).

[291] PEARSE, A. G. E.

Intracellular localization of dehydrogenase systems using monotetrazolium salts and metal chelation of this formazans

J. Histochem. Cytochem., 5, 515-530, (1957).

[292] PEARSE, A. G. E.

Localization of dehydrogenase and diaphorase systems with monotetrazolium salts and metal chelation

Biochem. J., 68, 17P-19P, (1958).

[293] PEARSE, A. G. E.

Histochemistry
Theoretical and applied

2nd edition, London: J. and A. Churchill, Ltd. (1960).

[294] PEARSE, A. G. E., D. G. SCARELLI, and R. HESS

A cytochemical study of dehydrogenases of mitochondria and mitochondrial particulates by a monotetrazolium - cobalt chelation method

J. biophys. biochem. Cytol., 7, 243-261, (1960).

[295] PETTE, D. und Th. BÜCHER

Proportionskonstante Gruppen in Beziehung zur Differenzierung der Enzymaktivitätsmuster von Skelettmuskeln des Kaninchens

Hoppe - Seyler Z. physiol Chem., 331, 180-195, (1963).

[296] PETER, K.

Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Niere

2. Auflage, Jena: G. Fischer Verlag, (1927).

[297] PETER, K.

Der feinere Bau der Niere

Münchner Med. Wchschr., 50, 2365-2369, (1914).

[298a] siehe Seite 254

[299] PHILIPPSON, Chr.

Derzeitiger Stand und neuere biochemische Grundlagen der Behandlung der chronischen Pyelonephritis im Stadium der chronischen Niereninsuffizienz

in: P. v. DITTRICH (Hrsg.) Aktuelle Probleme der Hämodialyse und der chronischen Niereninsuffizienz, S. 131-137.
München: Urban und Schwarzenberg Verlag, (1966).

[300] PIEL, C. F., L. DONG, F. W. S. MODERN, J. R. GOODMAN, and R. MOORE

The glomerulus in experimental renal disease in rats as observed by ligt and electron microscopy

J. exp. Med., 102, 573-584, (1955).

[301] PIEL, C. F., L. DONG, N. WARDLOW, G. MARTNER, and J. GOODMAN

Experimental renal disease as observed by electron microscopy

Fed. Proc., 17, 453-469, (1958).

[302] PIZER, L. J.

Phosphoglycerate mutase

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. VI. Group transfer syntheses coupled to ATP cleavage, p. 179-192.
2nd edition completely revised, New York - London: Academic Press, (1962).

[303] POLLAK, V. E., S. L. BONTING, R. C. MUEHRKE, and R. M. KARK

Quantitative measurements of alkaline phosphatase and lactic dehydrogenase activities in the anatomic units of human nephron

J. Lab. clin. Med., 52, 934-935, (1958).

[304] POLLAK, V. E., S. L. BONTING, R. C. MUEHRKE, and R. M. KARK

Quantitative histochemistry of the nephron. IV. Alkaline phosphatase and lactic dehydregenase activities in renal tubular disease

J. clin. Invest., 39, 1386-1395, (1960).

[305] POLLAK, V. E., S. L. BONTING, R. C. MUEHRKE, and R. M. KARK

Quantitative histochmistry of the nephron. V. Alkaline phosphatase and lactic dehydrogenase activities in lupus nephritis

J. clin. Invest., 39, 1394-1400, (1960).

[306] POLLAK, V. E., and H. MATTENHEIMER

Enzyme activity in the nephron. Quantitative study by ultramicro-chemical technique

Arch. intern. Med. (Chic.), 109, 473-484, (1962).

[307] POST, R. L., and A. K. SEN

An enzymatic mechanism of active sodium and potassium transport

J. Histochem. Cytochem., 13, 105-112, (1965).

[307 a] siehe Seite 254

[308] PRESSMAN, D., L. KORNGOLD, and W. HEYMANN

Localizing properties of anti-rat-kidney serum prepared in ducks

Arch. Path., 55, 347-359, (1953).

[309] RACKER, E.

Spectrophotometric measurement of hexokinase and phosphokinase activity

J. biol. Chem., 167, 843-859, (1947).

[310] RAPPOPORT, S. M.

Medizinische Biochemie

2. überarbeitete Auflage, Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit, (1964).

[311] REALE, E.

Electron microscopic localization of alkaline phosphatase from material prepared with cryostat-microtome

Exp. Cell Res., 26, 210-211, (1962).

[313] RICHTERICH, R., and H. E. FRANZ

Isolation of glomerula from rat kidney

Nature (London), 188, 498-499, (1960).

[314] RICHTERICH, R. und H. E. FRANZ

Das isolierte Glomerulum der Rattenniere.
II. Enzymmuster des Energiestoffwechsels (C-Raum)

Biochem. Z., 334, 149-167, (1961).

[315] RICHTERICH, R., P. SCHAFROTH und H. E. FRANZ

Das isolierte Glomerulum der Rattenniere.
III. Heterogenität der Laktat-Dehydrogenase
in Nierenrinde, Nierenmark und Glomerulum

Enzymol. biol. clin., 1, 114-122, (1961/1962).

[315a] RIFKIND, R. A., K. C. HSU, C. MORGAN, B. C. SEEGAL, A. W. KNOX, and H. M. ROSE

Use of ferritin-conjugated-antibody to localize
antigen by electron microscopy

Nature (London), 187, 1094-1095, (1960).

[316] ROODYN, D. B.

The enzymatic properties of rat licer nuclei. I. Extimation
of the extend to which contaminant material contributes to
the activity observed in the nuclear fraction

Biochem. J., 64, 361-368, (1956).

[317] ROODYN, D. B.

The binding of aldolase to isolated nuclei

Biochim. biophys. Acta, 25, 129-131, (1957).

[318] ROODYN, D. B.

The enzymatic properties of rat liver nuclei.
II. Factors affecting rhe aldolase activity
of rat liver nuclei

Biochem. J., 64, 368-376, (1956).

[319] ROODYN, D. B.

A survey of metabolic studies on isolated
mammalian nuclei

Int. Rev. Cytol., 8, 279-344, (1959).

[320] ROMEIS, B.

Mikroskopische Technik

15. Auflage, München: R. Oldenburg Verlag, (1948).

[321] ROSENTHAL, J. M., S. L. BONTING, W. HOGAN, and C. L. PIRANI

Tissue alkaline phosphatase in hypophosphatasia

Amer. J. Dis. Childh., 99, 185-189, (1960).

[322] ROTH, E., H. W. SCHULER, O. SULEDER und B. SOBOL

Metabolitenkonzentrationen in Herz, Gehirn, Niere und Leber des Hundes bei kontrollierter Hypotension

Z. ges. exp. Med., 144, 258-272, (1967).

[323] ROTHER, K. O.

Experimentelle Nierenkrankheiten

in: O. EICHLER, A. FARAH, H. HERKEN und A. D. WELCH (Hrsg.) Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Neue Serie. Band XVI. Erzeugung von Krankheitszuständen durch das Experiment, Teil 4. Niere, Nierenbecken, Blase, S. 1-220.
Berlin - Heidelberg-New York: Springer Verlag, (1965).

[324] ROTHER, K. O. und H. SARRE

Die experimentelle Glomerulonephritis

in: P. MIESCHER und K. O. VORLAENDER (Hrsg.) Immunpathologie in Klinik und Forschung, S. 321-368.
2. Auflage, Stuttgart: G. Thieme Verlag, (1961).

[325] RUTTER, J. W.

Aldolase

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. V. Hydrolytic cleavage, Part. B, p. 341-366.
2nd edition, cpmletely revised, New York - London: Academic Press, (1961).

[326] RYTAND, D. A.

The number and size of mammalian glomeruli as related to kidney and body weight with method for their enumeration and measurement

Amer. J. Anat., 62, 507-513, (1937/1938).

[327] SANDERS, A. P., J. H. HALL, P. J. CAVANAUGH, and B. WOODHALL

Effect of hyperbaric oxygenation on metabolism. I. ATP concentration in rat brain, liver, and kidney

Proc. Soc. Exp. Med., 121, 32-34, (1966).

[328] SARRE, H.

Die Durchblutung der Niere bei der experimentellen Glomerulonephritis

Dtsch. Arch. klin. Med., 183, 515- , (1939).

[329] SARRE, H.

Über normale und pathologische Sauerstoffversorgung des Gewebes, insbesondere der Niere

Klin. Wchschr., 17, 1716-1721, (1938).

[330] SARRE, H. und W. EGER

Über die Atmung überlebenden Nierengewebes bei der experimentellen diffusen Glomerulonephritis

Z. klin. Med., 136, 96-107, (1939).

[331] SARRE, H. und K. O. ROTHER

Gegen Niere gerichtete Antikörper

in: P. MIESCHER und K. O. OVRLAENDER (Hrsg.) Immunpathologie in Klinik und Forschung, S. 317-358. 1. Auflage, Stuttgart: G. Thieme Verlag, (1957).

[332] SARRE, H. und H. WIRTZ

Geschwindigkeit und Ort der "Nephrotoxin"-Bindung bei der experimentellen Glomerulonephritis

Klin. Wchschr., 18, 1548-1550, (1939).

[333] SARRE, H. und W. WIRTZ

Geschwindigkeit und Ort der Antigen-Antikörper-Reaktion bei der experimentellen Glomerulonephritis

Dtsch. Arch. klin. Med., 189, 1-17, (1942).

[334] SCAGLIONE, P. R., R. B. DELL, and R. W. WINTERS

Lactate concentration in the medulla of rat kidney

Amer. J. Physiol., 209, 1193-1198, (1965).

[335] SCHIRMEISTER, J., L. SCHMIDT und A. MOENCH

Die renale Inulinextraction bei "Masugi-Nephritis"-Kaninden in Analogie zur Nephritis des Menschen

Klin. Wchschr., 38, 723-724, (1960).

[336] SCHAFROTH, P. und R. RICHTERICH

Das isolierte Glomerulum der Ratte.
IV. Enzymmuster der Endoxidation

Enzymol. biol. clin., 3, 165-183, (1963).

[337] SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT

Untersuchungen über optimale Reaktionsbedingungen für Enzym-Aktivitätsbestimmungen in Leberextrakten und in Extrakten anderer Organe und im Serum.
I. Mitteilung zur Merhodik von Enzymbestimmungen in menschlichen Organextrakten und im Serum

Enzymol. biol. clin., 2, 201-222, (1962/1963).

[338] SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT

Die Auswirkung verschiedener Extraktionsarten auf Enzym-Aktivitätsbestimmungen in Lebergewebe.
II. Mitteilung zur Methodik von Enzymbestimmungen in menschlichen Organextrakten und im Serum

Enzymol. biol. clin., 2, 223-232, (1962/1963).

[339] SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT

Das Verteilungsmuster einiger Enzyme in der menschlichen Leber und seine Veränderung unter der Zellschädigung.
III. Mitteilung zur Methodik von Enzymbestimmungen in menschlichen Organextrakten und im Serum

Enzymol. biol. clin., 3, 73-79, (1963).

[340] SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT

Untersuchungen über die Alterung von Enzymen in vitro.
IV. Mitteilung zur Methodik von Enzymbestimmungen in menschlichen Organextrakten und im Serum

Enzymol. biol. clin., 3, 80-86, (1963).

[341] SCHMIDT, F. H.

Über die Bestimmung der Myokinase-(Adenylatkinase)--Aktivität im Serum

Klin. Wchschr., 42, 476-482, (1964).

[342] SCHMIDT, G.

Nonspecific acid phosphomonesterases

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. V. Hydrolytic cleavage, Part. B. p. 37-48.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1961).

[343] SCHMIDT, G., and M. LASKOWSKY

Phosphatase ester cleavage

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. V. Hydrolytic cleavage, Part. B. p. 3-36.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1961).

[344] SCHWERT, G. W., and A. W. WINER

Lactate dehydrogenase

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. VII. Oxidation and reduction, Part. A. Nicotinamide nucleotide-linked enzymes; flavin nucleotide-linked enzymes, p. 125-148.
2nd edition, completely revised, London - New York: Academic Press, (1963).

[345] SEEGAL, B. C., K. C. HSU, M. S. ROTHENBERG, and M. C. CHAPEAU

Studies of the mechanism of experimental nephritis with fluorescein antibody. II. Localization and persitance of injected rabbit or duck anti-rat-kidney serum during course of nephritis in rats

Amer. J. Path., 41, 183-199, (1962).

[346] SIEBERT, G.

Andere Adenosintriphosphatasen (Nucleosidtriphosphatasen) (Nucleosid-5-triphosphat-phosphohydrolasen)

in: HOPPE-SEYLER, THIERFELDER (Hrsg.) Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse Band VI. Enzyme, Teil C. S. 439-460. 10. Auflage, Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag, (1966).

[347] SIEBERT, G., and R. M. SMELLIE

Enzymatic and metabolic studies on isolated nuclei

Int. Rev. Cytol., 6, 383-424, (1957).

[348] SKOU, J. C.

Preparation from mammalian brain and kidney of the enzyme system incolced in active transport of Na^+ and K^+

Biochim. biophys. Acta, 58, 314-325, (1962).

[349] SLEIN, M. W.

Phosphomannose - Isomerase

J. biol. Chem., 186, 753-766, (1950).

[350] SLEIN, M. W.

Phosphohexoseisomerase from muscle

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (editors) Methods in enzymology, Vol. I. Preparation and assay of enzymes, p. 299-309.
New York - London: Academic Press, (1955).

[351] SLEIN, M. W.

D-Glukose - Bestimmung mit Hexokinase und Glukose-6-phosphatdehydrogenase

in: H. U. BERGMEYER (Hrsg.) Methoden der enzymatischen Analyse, S. 117-122.
Weilheim, Verlag Chemie, (1962).

[352] SLEIN, M. W., G. T. CORI, and C. T. CORI

A comparative study of hexokinase from yeast and animal tissue

J. biol. Chem., 186, 763-771, (1950).

[353] SMADEL, J. E., and L. E. FARR

Experimental nephritis in rats induced by injection of anti-kidney serum; clinical and functional studies

J. exp.Med., 65, 527-543, (1937).

[354] SMITH, H. W.

The kidney. Structure and function in health and disease 1st edition

New York: Oxford University Press, (1951).

[355] SPATER, H. W., A. B. NOVIKOFF, and B. MASSEK

Adenosine triphosphatase activity in cell membranes of kidney tubule cells

J. biophys. biochem. Cytol., 4, 765-770, (1958).

[356] STADTMAN, Th. C.

Alkaline phosphatases

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. V. Hydrolytic cleavage, Part B. p. 55-72.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1961).

[357] STAVE, U.

Age dependent changes of metabolism. I. Studies of enzyme patterns of rabbit organs

Biol. neonat., 6, 128-147, (1964).

[358] STAVE, U.

Untersuchungen von Enzymmustern in Kaninchenorganen

in: F. LINNEWEH (Hrsg.) Fortschritte der Pädologie Band 1, S. 75-87.
Berlin - Heidelber - New York: Springer Verlag, (1965).

[359] STRAUS, W.

Isolation and biochemical properties of droplets from the cells of rat kidney

J. biol. Chem., 207, 745-755, (1954).

[360] STRAUS, W.

Concentration of acid phosphatase, ribonuclease, desoxyribonuclease, glucoronidase, and cathepsin in droplets isolated from the kidney cells of normal rats

J. biophys. biochem. Cytol., 2, 513-521, (1956).

[361] STRAUS, W.

Changes in droplet fractions from rat kidney cells after interperitoneal injection of egg white

H. biophys. biochem. Cytol., 3, 933-947, (1957).

[362] SUTHERLAND, E. W., T. POSTERNAK, and C. F. CORI

Mechanism of the phosphoglyceric mutase reaction

J. biol. Chem., 181, 153-166, (1949).

[363] SYDOW, G.

Hexokinase- und Phosphofruktokinase-Aktivität in Geweben der Ratte während der prae- und postnatalen Entwicklung

Hoppe-Seyler Z. physiol. Chem., 350, 263-268, (1969).

[364] TAYLOR, J. F.

Aldolase from muscle

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN (editors) Methods in enzymology, Vol. I. Preparation and assay of enzymes, p. 310-322.
London - New York: Academic Press, (1955).

[365] THIEL, G.

Polycythaemia bei Nierengeschwülsten

Dtsch. Arch. klin. Med., 208, 111-134, (1962).

[366] THIELE, K. und H. MATTENHEIMER

Die Isoenzyme der Laktatdehydrogenase in der Rattenniere

Z. klin. Chem., 4, 232-234, (1966).

[367] THORLING, E. B. and K. JENSEN

The lactic dehydrogenase isoenzymes in various organs of the rabbit in anaemia, hypoxia and after cobalt administration, with special reference to changes in the isoenzyme pattern of the kidney cortex

Acta Path. Microbiol. Scand., 66, 426-437, (1966).

[368] THORN, W., E. W. BUSCH, A. SCHEITZA, G. JACOBS und H. HARTMANN

RNS- und Metabolitengehalte in Warmblüterorganen nach unterschiedlicher akuter und chronischer Belastung

Biochem. Z., 339, 112-124, (1963).

[369] THORN, W., W. ISSELHARD und B. MÜLDENER

Glykogen-, Glukose- und Milchsäuregehalt in Warmblüterorganen bei unterschiedlicher Versuchsanordnungen und Belastung mit Hilfe optischer Fermentteste ermittelt

Biochem. Z., 331, 545-562, (1959).

[370] THORN, W., G. JACOBS, H. LAPP und P. v. WICHERT

Metabolische und histologische Veränderungen in den Nieren nach 2 bis 3stündiger Ischämie und Wiederdurchblutungszeiten bis zu 20 Tagen

Pflügers Arch. ges. Physiol., 276, 1-10. (1962).

[371] THORN, W. und F. LIEMANN

Metabolitenkonzentrationen in der Niere und PAH--Clearance nach akuter Ischämie und in der Erholung nach der Ischämie

Pflügers Arch. ges. Physiol., 273, 528-542, (1961).

[372] THORN, W., G. PFLEIDERER und R. A. FROWEIN

Stoffwechselvorgänge im Gehirn bei akuter Anoxie, akuter Ischämie und in der Erholung

Pflügers Arch. ges. Physiol., 261, 334-352, (1955).

[373] THORN, W. und H. SCHEITZA

Glukosebildung und Glykogeneinlagerung in Gehirn, Leber, Niere, Herz- und Skelettmuskulatur bei kohlehydratfreier Ernährung

Pflügers Arch. ges. Physiol., 273, 18-28, (1961).

[374] THURAU, K.

Renal sodium readsorption and O_2 - uptake in dogs during hypoxia and hydrochlorothiazide infusion

Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 106, 714-729, (1961).

[375] THURAU, K.

Autoregulation of RBF and GRR including data on tubular an peritubular pressure and vessel wall tension

Circulat. Res., 14, Suppl. 1, 132-156, (1964).

[376] THURAU, K.

Hämodynamik des Nierenkreislaufs

in: H. SCHWIEGK (Hrsg.) Handbuch der inneren Medizin, Band VIII. Nierenkrankheiten, Teil 1. S. 47-89. 5. Auflage, Berlin - Heidelberg - New York: Springer-Verlag, (1968).

[377] THURAU, K. und P. DEETJEN

Physiologie der Nierenfunktion: Die glomeruläre Filtration

in: H. SCHWIEGK (Hrsg.) Handbuch der inneren Medizin, Band VIII. Nierenkrankheiten, Teil 1. S. 90-98. 5. Auflage, Berlin - Heidelber - New York: Springer Verlag, (1968).

[378] THURAU, K. und J. SCHNEERMANN

Die Natriumkonzentration an den Macula densa Zellen als regulierender Faktor für das Glomerulumfiltrat

Klin. Wchschr., 43, 410-422, (1965).

[379] TRIEDMAN, R. S., H. METZGER, K. C. HSU, M. ROTHENBERG, B. C. SEEGAL, and A. URQUHART

Studies of the mechanism of experimental nephritis with fluorescein-labelles antibody. I. Localization and persistance of injected duck anti-rat-lung serum during the course of nephritis in rats

Amer. J. Path., 41, 95-111, (1962).

[380] TOPPER, Y. J.

Aldose-ketose transformations

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. V. Hydrolytic cleavage, Part. B. p. 429-441. 2nd edition, completely revised, New York-London: Academic Press, (1961).

[381] TRUSS, F. und W. HORST

Vergleichende fermentchemische, licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen bei experimentellen Nierenschädigungen

Med. Welt, 17, 123-130, (1966).

[382] TSUBOI, K. K.

Mouse-liver nucleic acids. II. Ultraviolett absorption studies

Biochim. biophys. Acta, 6, 202-210, (1950).

[383] ULLRICH, K. J.

Renal tranpsort of sodium

in: Proc. III. Int. Congr. Nephrol., Washington, 1966, Vol. I. Physiology, p. 48-61.
Basel - New York: Karger Verlag, (1967).

[384] VELICK, S. F., and Ch. FURFINE

Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

in: P. D. BOYER, H. LARDY, and K. MYRBÄCK (editors) The enzymes, Vol. VII. Oxydation and reduction, Part. A. Nicotinamide nucleotide-linked enzymes; flavin nucleotide-linked enzymes, p. 243-274.
2nd edition, completely revised, New York - London: Academic Press, (1963).

[385] VILCHEZ, J., and A. M. CHALCARDJIAN

Activity of lactate- and glucose-6-phosphate dehydrogenase in glomeruli and proximal tubules of magnesium-deficient rats

Proc. Soc. exp. Biol., 128, 167-168, (1968).

[386] VOGELL, W., S. R. BISHAI, Th. BÜCHER, M. KLINGENBERG, D. PETTE und F. ZEBE

Über strukturelle und enzymatische Muster in Muskeln von Locusta migratoria

Biochem. Z., 332, 81-107, (1959).

[387] VOGT, H., F. WÜTHRICH und F. REUBI

Über das Verhalten der alkalischen Phosphatase und der Lipase bei der Masugi-Nephritis mit und ohne Cortisonacetat

Helv. med. Acta, 19, 357-369, (1952).

[388] WACHSTEIN, M.

Influence of experimentel kidney damage on histochemically demonstrable lipase activity on the rat; comparison with alkaline phosphatase activity

J. exp. Med., 84, 25-36, (1946).

[389] WACHSTEIN, M.

Histochemical staining reactions in the normally functioning and abnormal kidney

J. Histochem. Cytochem., 3, 246-270, (1955).

[390] WACHSTEIN, M., and M. BRANDSHAW

Histochemical localization of enzyme activity in the kidney of three mammalian species during their postnatal development

J. Histochem. Cytochem., 13, 44-56, (1965).

[391] WACHSTEIN, M., M. BRANDSHAW, and J. M. ORTITZ

Histochemical demonstration of mitochondrial adenosine triphosphatase activity in tissue sections

J. Histochem. Cytochem., 10, 65-74, (1962).

[392] WACHSTEIN, M., and K. LANGE

Proteinuria and tubular atropie in the rat. Their relationship as studied by enzymatic histochemistry, with special reference to anti-rabbit-kidney serum nephritis and aminonucleoside nephrosis

Lab. Invest., 9, 371-379, (1960).

[393] WACHSTEIN, M., and K. LANGE

Histologic and histochemical studies of the rabbit glomerulonephritis produced by specific antikidney duck serum

Amer. J. Path., 34, 835-861, (1958).

[394] WACHSTEIN, M., and E. MEISEL

Histochemical localization of enzyme activities in various portions of the mammalian nephron

Amer. J. Path., 31, 588-589, (1955).

[395] WACHSTEIN, M., and E. MEISEL

Influence of experimental renal damage on histochemically demonstrable succinic dehydrogenase activity in the rat

Amer. J. Path., 30, 147-165, (1954).

[396] WALDMANN, R. H., and H. B. BURCH

Rapid method for study of enzyme distribution in rat kidney

Amer. J. Physiol., 204, 749-752, (1963).

[397] WARBURG, U. und W. CHRISTIAN

Über die Aktivierung der Robinsonchen Hexose-monophosphorsäure in roten Blutzellen und die Gewinnung aktivierender Fermentlösungen

Biochem. Z., 242, 206-233, (1931).

[398] WARBURG, O. und W. CHRISTIAN

Verbrennung von Robinson-Ester durch Triphospho-pyridinnucleotid

Biochem. Z., 287, 440-450, (1936).

[399] WARBURG, O. und W. CHRISTIAN

Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten (Pyridin-Nukleotide)

Biochem. Z., 287, 291-328, (1936).

[400] WARBURG, O. und W. CHRISTIAN

Isolierung und Kristallisation des Gärungsfermentes Enolase.

Biochem. Z., 310, 384-399, (1941).

[401] WEBER, E.

Grundriß der biologischen Statistik

5. Auflage, Jena: VEB G. Fischer Verlag, (1964).

[402] WEBER, G.

Kidney enzymes of gluconeogenesis, glycogenesis, glycolysis and direct oxidation

Proc. Soc. exp. Biol., 108, 631-634, (1961).

[403] WEBER, G.

Study and evalution of regulation of enzyme activity and synthesis in mammalian liver

Advan. Enzyme Regulation, 1, 1-35, (1963).

[404] WEINREB, M. S., K. H. SOULES, and R. W. WISSLER

Quantitative studies of acute nephrotoxic nephritis in rats

Amer. J. Path., 30, 511-520, (1954).

[405] WELCH, B. L.

The significance of the difference between two means, when the population variances are unequal

Biometrika, 29, 350-362, (1937).

[406] WHEELER, K. P., and R. WHITTAM

Some properies of a kidney adenosine triphosphatase relevant to active cation transport

Biochem. J., 85, 495-507, (1962).

[407] WHEELER, K. P., and R. WHITTAM

Structural and enzymatic aspects of the hydrolysis of ATP by membranes of kidney cortex and erythrozytes

Biochem. J., 93, 349-363, (1964).

[408] WHITTAKER, V. P.

The isolation and characterization of acetyl-choline-containing particles from brain

Biochem. J., 72, 694-706, (1959).

[409] WHITTAM, R.

Active cation transport as a pace maker of respiration

Nature (London), 191, 603-604, (1961).

[410] WHITTAM, R., and M. E. AGER

Vectorial aspects of adenosine-triphosphatase activity in erythrocyte membranes

Biochem. J., 93, 337-348, (1964).

[411] WHITTAM, R., and J. S. WILLIS

Ion movements and oxygen consumption in kidney cortex slices

J. Physiol., 168, 158-177, (1963).

[412] WILMER, H. A.

Renal phosphatase. The correlation between functional activity of renal tubule and its phosphatase content

Arch. Path., 37, 227-237, (1944).

[413] WILSON, D. M., and J. M. KISSANE

Quantitative histochemistry of the kidney.
III. The distribution of elektrolytes in the kidneys of K-deficient and normal rats in carious states of hydration

Lab. Invest., 2, 45-57, (1962).

[414] WINEMILLER, R., R. STEBLAY, and B. SPARGO

Electron microscopy of acute anti basement membrane nephritis in rats

Fed. Proc., 20, 37-49, (1961).

[415] WIRZ, H.

Tubulusfunktionen, Membrantransporte, Harnkonzentrierung und Diureseformen

in: H. SCHWIEGK (Hrsg.) Handbuch der inneren Medizin, Band VIII. Nierenkrankheiten, Teil 1. S. 99-136. 5. Auflage, Berlin - Heidelber - New York: Springer-Verlag, (1968).

[416] WOLLENBERGER, A., O. RISTAU und G. SCHOFFA

Eine einfache Technik der extrem schnellen Abkühlung größerer Gewebsstücke

Pflügers Arch. ges. Physiol., 270, 399-412, (1959/1960).

[417] WOLLENBERGER, A., E.-G. KRAUSE und B. E. WAHLER

Orthophosphat- und Phosphokreatingehatl des Herzmuskels

Naturwiss., 45, 294-297, (1958).

[418] WU, R.

Rate limiting factors in glycolysis and inorganic orthophosphaste transport

J. biol. Chem., 240, 2373-2381, (1965).

[419] ZOLLINGER, H.-U.

Die experimentelle Glomerulonephritis

in: W. DOERR und E. UEHLINGER (Hrsg.) Spezielle Pathologische Anatomie, Band III: H.-U. ZOLLINGER Niere und ableitende Harnwege. S. 354-366. Berlin - Heidelberg - New York: Springer Verlag, (1966).

[168a] HORECKER, B. L., and P. Z. SMYRNIOTIS

6-Phosphogluconatedehydrogenase

in: S. P. COLOWICK, and N. O. KAPLAN Methods in enzymology, Vol. I. Preparation and assay of enzymes p. 323-334.
London - New York: Academic Press, (1955).

[270a] NAETS, J. P., and A. F. HEUSE

Measurement of erythropoietic stimulating factor in anaemic patients with or without renal disease

J. Lab. Clin. Med., 60, 365-375, (1962).

[298a] PFLEIDERER, G. und D. JECKEL

Individuelle Milchsäuredehydrogenasen bei verschiedenen Säugetieren

Biochem. Z., 329, 370-392, (1957).

[307a] PRATT, O. E.

Some factors affecting rat brain phosphatase activity in fresh tissue suspensions and in histochemical methods

Biochim. biophys. Acta, 14, 380-397, (1954).

Lebenslauf

Ich, Hubertus Gerhard Knüfermann, wurde am 14.5.1940 in Merseburg/ Saale als Sohn des Diplom-Mathematikers Dr. rer. techn. Gerhard Knüfermann und seiner Ehefrau Christine, geborene Weigelt geboren. Ich bin evangelischer Konfession und besitze die deutsche Staatsangehörigkeit.

Am 24.2.1960 bestand ich an der Gutenberg-Schule, Gymnasium für Jungen, naturwissenschaftlich-mathematischer Zweig in Wiesbaden die Reifeprüfung. Anschließend diente ich 21 Monate in der Sanitätsgruppe der Bundeswehr, aus der ich als Leutnant der Reserve am 31.12.1961 ausschied.

Mein Medizinstudium begann ich an der Universität München und bestand dort am 17.10.1962 die naturwissenschaftliche und am 28.4.1964 die ärztliche Vorprüfung. Das klinische Studium erfolgte danach in Tübingen; am 30.7.1968 bestand ich das medizinische Staatsexamen an dieser Universität. Parallel zum medizinischen Studium studierte ich an der Universität Tübingen Biochemie; am 24.10.1967 legte ich das Vordiplom in diesem Studienfach ab.